

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE BELLAS ARTES

Departamento de Pintura



**MATERIALES DE VACIADO AGLUTINADOS CON
CARBONATO CÁLCICO DE ORIGEN BIOLÓGICO**

**MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR POR**

Sol Abelló Ulloa

Bajo la dirección de los Doctores:

Sabine Castanier-Perthuisot
Carlos Pereira Prado
Manuel Parrado Dorado

Madrid, 2002

ISBN: 84-669-1889-2

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE BELLAS ARTES
DEPARTAMENTO DE PINTURA – RESTAURACIÓN



MATERIALES DE VACIADO AGLUTINADOS
CON CARBONATO CÁLCICO DE ORIGEN BIOLÓGICO

TESIS

que para alcanzar el Grado de Doctora Europea en Bellas Artes, presenta

Sol ABELLÓ ULLOA

Licenciada en Bellas Artes

Directores: **Dra. Sabine CASTANIER – PERTHUISOT**

Dr. Carlos PEREIRA PRADO

UNIVERSIDAD DE NANTES
Facultad de Ciencias Técnicas
Departamento de Biología y Microbiología

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
Facultad de Bellas Artes
Departamento de Pintura – Restauración
MADRID 2002

INDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPITULO 1	
1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	6
CAPITULO 2: Estado de la cuestión	
2. Introducción	12
2. 1. Formación de concreciones en ausencia de organismos vivos	16
2. 2. Los mecanismos de la vida	16
2. 3. Consolidación de la calcita, empleando macromoléculas de matrices orgánicas de las conchas <i>Mytilus Californianus</i>	17
2. 4. Las bacterias arquitectas	18
2.4.1. Una nueva ciencia: La Microbiogeología	19
2.4.2. La Carbonatogénesis	20
2.4.3. Eficacia de la Biomineralización natural o Carbonatogénesis	24
CAPITULO 3: Procedimiento experimental Ensayos con diferentes moldes	32
3. Introducción	32
3.1. Mortero para moldes: Mortero nutritivo n ° 6, (N. M. 6.) sólo para morteros	32
3.1.1. Ensayo n ° 1 y ensayo n ° 2	35
3.1.2. Ensayo n ° 1 (Molde de monedas)	36
3.1.3. Realización de los morteros	37
3.1.4. - Realización de la Biomineralización	37
3. 2. Ensayo n ° 2 (molde con distintos tipos de caras)	42
3. 2. 1. Realización de los morteros	43

3. 2. 2. Realización de la Biomineralización	44
3.3. Resultados y comentarios de los ensayos n ° 1 y n ° 2	45
3. 1. Ensayo n ° 1	45
3.2. Ensayo n ° 2	47
3. 4. Ensayo n ° 3	47
3. 4. 1. Realización del mortero	49
3.4. 2. Realización de la Biomineralización	52
3.4. 3. Resultados y comentarios	57
3. 5. Ensayo n ° 4	58
3. 5. 1. Realización del mortero	60
3.5. 2. Realización de la Biomineralización	62
3. 5. 3. Resultados y comentarios	68
3. 6. Ensayo n ° 5	69
3. 6. 1. Realización del mortero	70
3. 6. 2. Realización de la Biomineralización	72
3. 6. 3. Resultados y comentarios	73
3. 6. 4. Observación mediante MEB (Microscopía Electrónica de Barrido)	74
3. 7. Ensayo n ° 6	75
3. 7. 1. Realización del mortero	76
3. 7. 2. Realización de la Biomineralización	78
3. 7. 3. Resultados y comentarios	
3. 7. 4. Observación mediante MEB (Microscopía Electrónica de Barrido) de la réplica de la Menelita pequeña	85
3. 7. 5. Observación mediante MEB (Microscopía Electrónica de Barrido)de la réplica de una efigie indígena	86

CAPITULO 4: Inclusión del polvo de gel de sílice en los morteros: Aplicación para la realización de los moldes	87
4. Equilibrado del pH del medio nutricional n ° 6	87
4. 1. Interés de la inclusión del polvo de gel de sílice	88
4. 2. Impacto del gel de sílice sobre el pH de los morteros	90
4. 2. 1. Impacto del polvo de gel de sílice sobre los componentes separadamente	90
4. 2. 2 Impacto del polvo de gel de sílice sobre el mortero completo	91
CAPITULO 5: Pigmentos utilizados en el Mortero Bacteriano:	
• Análisis de Espectrometría	
• Observación mediante MEB, (Microscopía Electrónica de Barrido)	93
5. Introducción	93
LAMINA 1	
5. 2. Espectrometría de Mortero biológico fresco	95
5. 2. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	96
LAMINA 2	
5. 3. Espectrometría de Novelda (45 µm)	98
5. 3. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	99
LAMINA 3	
5. 4. Espectrometría de Bacteria liofilizada	100
5. 4. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	101
LAMINA 4	
5. 5. Espectrometría de la espora del Bacillus Cereus	102
5. 5. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	103
LAMINA 5	
5. 6. Espectrometría de gel de sílice puro	104
5. 6. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	105

LAMINA 6

5. 7. Espectrometría del pigmento sombra tostada.	106
5. 7. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	107

LAMINA 7

5. 8. Espectrometría del pigmento amarillo ocre	108
5. 8. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	109

LAMINA 8

5. 9. Espectrometría del pigmento rojo indio	110
5. 9. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	111

LAMINA 9

5. 10. Espectrometría del pigmento siena tostada	112
5. 10. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	113

LAMINA 10

5. 11. Espectrometría del pigmento negro de ébano	114
5. 11. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido	115

CAPITULO 6: Ensayos con diferentes moldes 116

6. Introducción 116

6. 1. Mortero para moldes: Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.), sólo para morteros 117

6. 2. Ensayo n ° 1 118

6. 2. 1. Bacteria liofilizada	119
6. 2. 2. Crema bacteriana	119
6. 2. 3. Realización del mortero	120
6. 2. 4. Obtención de la Biomasa	121
6. 2. 5. Obtención de la Crema bacteriana	121
6. 2. 6. Realización del mortero	123
6. 2. 7. Pigmentos que se van a utilizar en este experimento	124

6. 3. Molde pequeño de Amonites 126

6. 3. 1. Cálculo total de	
---------------------------	--

la superficie de los moldes realizados, para aplicar la Biomineralización	128
6. 3. 2. Aplicación de la Biomineralización	129
6. 3. 3. Resultados y comentarios	131
6. 3. 4. Observación de mortero con pigmentos mediante MEB (Microscopía Electrónica de Barrido)	134
6. 4. Ensayo n ° 2	136
6. 4. 1. Aplicación de la Biomineralización	138
6. 4. 2. Resultados y comentarios	140
6. 5. Ensayo n ° 3	141
6. 5. 2. Realización del molde de amonites pequeño con bacteria liofilizada	142
6. 5. 3. Aplicación de la Biomineralización	145
6. 5. 4. Resultados y comentarios	146
6. 6. Ensayo n ° 4	146
6. 6. 1. Resultados y comentarios	147
6. 6. 2. Observación mediante MEB (Microscopía electrónica de barrido)	
Introducción	149
6. 7. Ensayo n ° 5	151
6. 7. 1. Realización del mortero	152
6. 7. 2. Aplicación de la Biomineralización	154
6. 8. Ensayo n ° 6	155
6. 8. 1. Realización del mortero	156
6. 9. Ensayo n ° 5	158
6. 9. 1. Realización del mortero	158
6. 9. 2. Aplicación de la Biomineralización	159
6. 9. 3. Adhesión de las piezas	160
6. 9. 4. Resultados y comentarios	162

6. 10. Ensayo n ° 7	163
6. 10. 1. Realización del mortero	164
6. 10. 2. Aplicación de la Biomineralización	165
6. 10. 3. Adhesión de las piezas	166
6. 10. 4. Resultados y comentarios	169
 6. 11. Ensayo n ° 8	 170
6. 11. 1. Realización del mortero	172
6. 11. 2. Aplicación de la Biomineralización	172
6. 11. 3. Adhesión de las piezas	173
6. 11. 4. Resultados y comentarios	174
 6. 12. Ensayo n ° 9	 175
6. 12. 1. Realización del mortero	175
6. 12. 2. Realización de la Biomineralización	177
 6. 13. Ensayo n ° 10	 179
6. 13. 1. Aplicación de la Biomineralización	180
6. 13. 2. Adhesión de las piezas	181
6. 13. 3. Resultados y comentarios	183

CAPITULO 7

ANEXO I : Ensayos sobre pintura mural	184
1. Introducción	184
1. 2. Obtención de la biomasa	184
1. 3. Adhesión de los fragmentos de pintura mural	187
A. Adhesión de un fragmento de pintura mural sobre piedra artificial	188
B. Adhesión de un fragmento de pintura mural partido y posterior adhesión sobre piedra artificial	188
C. Adhesión de un fragmento de pintura mural sobre piedra de Tuffeau	188
D. Adhesión de un fragmento de pintura mural sobre piedra de St.Vast	
1. 4. Aplicación de la Biomineralización	190

1. 5. Resultados y comentarios	191
ANEXO II: Ensayos sobre la adhesión de distintos tipos de piedras	192
2. Introducción	192
2. 1. Resultados y comentarios	193
ANEXO III: Mortero para relleno de oquedades	194
3. Introducción	194
3. 1. Resultados y comentarios	195
ANEXO IV: Mortero para la adhesión de un fragmento de pintura mural del siglo XVII	196
4. Introducción	196
4. 1. Resultados y comentarios	197
CAPITULO 8 : Conclusiones generales	198
8. Sobre el carácter de las conclusiones	198
8. 1. Ámbito conceptual	199
8. 2. Ámbito funcional	199
Referencias bibliográficas	205
Índice de figuras	215

1. Introducción

Introducción general

Es creciente el interés de los conservadores - restauradores en dar a conocer y difundir las experiencias adquiridas y los aspectos técnicos de las intervenciones en los Bienes Culturales, que, en muchos casos, quedan archivadas y olvidadas en distintos organismos, dificultándose el acceso al resto de especialistas.

Los conservadores - restauradores responden frente al Patrimonio, con la elaboración de un estudio o diagnóstico, tomando medidas de conservación preventiva y terapéuticas e interviniéndolo en caso de necesidad, de lo que se desprende que el objetivo fundamental de esta profesión sea mantener la salud del Patrimonio y no exclusivamente intervenir u operar. Y mantener esta difícil salud exige compartir soluciones y experiencias; ***“El Conservador - Restaurador debe contribuir al desarrollo de la profesión compartiendo experiencias e informaciones”***.¹

Por todo esto, el trabajo de investigación que presento, va dirigido a mis compañeros de profesión y a todos aquellos a quienes pueda servir de ayuda.

El objeto del presente estudio, consiste en la formulación de morteros inorgánicos utilizables para la obtención de copias que reproduzcan fielmente obras originales compuestas de carbonato cálcico, (*ya sea piedra, pintura mural etc., así como piezas resultantes de la actividad de distintos organismos vivos, como conchas, marfiles, etc.*) mediante el vaciado de materiales aglutinados con carbonato cálcico de origen biológico.

¹ Conservadores - restauradores Europeos: Una nueva definición y un código deontológico de la profesión”. II Código Deontológico: 1. Principios generales para la aplicación del código. **Artículo 21.** Ponencia de Pierre Mason, presidente de la “European Confederation of Conservator - Restores Organizations”, E.C.C.O. , sobre el papel de las asociaciones profesionales DE Conservadores - restauradores en el campo de la enseñanza , de la ética y la política cultural. Cuadernos de Restauración. Nº 0. Segundo semestre. 1997.

El tema elegido presenta un especial interés por la innovación que supone el poder obtener copias exactas de un original, tanto en su textura, forma, composición química o biológica, etc., y sus aplicaciones en el campo de los facsímiles, conservación y restauración.

Por lo que respecta a las reproducciones, si bien hasta el momento los objetos compuestos de carbonato cálcico, se reproducían con materiales totalmente ajenos a su composición original, por medio de reproducciones que conllevaban a veces serios riesgos para el original (cementos, escayolas, materiales orgánicos², etc.), los distintos métodos en proceso de estudio, que se abordarán en este trabajo, nos llevarían a obtener copias de un material lo más cercano a su composición original.

Así mismo, desde el punto de vista de la conservación, estos métodos tendrían un gran interés. Es de todos conocido, el riesgo a que están sometidas un gran número de obras “irrepetibles” (contaminación atmosférica, lluvia ácida o el simple desgaste que producen los elementos atmosféricos, atentados de manos de perturbados, actos de vandalismo, negligencia en las exposiciones, traslados, embalaje y desembalaje,³ etc.), y que han situado muchos de los legados artísticos al borde de su completa desintegración.

² “Italia: Nuevas técnicas para conservar el patrimonio artístico. ¿Dirías que son de plástico?”. Revista Natura, 1996. Pags. 58- 62: “El *Opificio delle Pietre Dure* di via Alfani 78, un prestigioso taller florentino fundado en 1558, se ha empeñado en la reproducción de auténticos facsímiles de no pocas obras maestras. El *Opificio delle Pietre Dure* emplea sobre todo dos materiales para la elaboración de sus <<obras maestras>>: la vitrorresina y el polvo de mármol, sobre todo los que aplica un peculiar método con el que consigue la mayor fidelidad posible hacia el método original, pero siempre utilizando materiales sintéticos.

³ Ejemplos de estos actos vandálicos son por ejemplo: el *David* de Miguel Angel, una de las cumbres escultóricas del Renacimiento italiano y del arte de todos los tiempos, que fue atacada por un perturbado de 47 años, quien la golpeo con un martillo causándole desperfectos en uno de sus pies. Por citar algún ejemplo más, me remitiré a nombrar la exposición itinerante sobre “*las culturas de los mares del sur*”, y que llegaba para su exposición a la Fundación de “La Caixa” de Barcelona, en septiembre de 1995, procedente de Milán tras haber sido expuesta en dicha ciudad. En dicha exposición, un “*Moai*” (*escultura de la isla de Pascua, perteneciente al periodo ahu-moai y tallada en lava volcánica ‘piedra toba’*), se partió en dos, debido a una negligencia en su traslado. (ver artículo 1º al final de este proyecto).

-Stolow, N. . “*Controlled environment for works of art in transit*”. Rome, International centre for Study of the Conservation and restoration of cultural Property (Rome Centre). 1966.

-Stolow, N. “*Conservation and exhibitions: packing, transport, storage and environmental considerations*”. Butterworths. 1986.

-Bucos Aguado, J. A. “*Criterios de prestación*”. Instituto de Conservación y Restauración de Bienes Culturales. Ministerio de Educación y Ciencia. Revista de Museología, nº 8. Julio de 1996.

Como cita Graf Adelman ⁴: 3.1. *“El conservador - restaurador tiene una responsabilidad particular en cuanto que se trata de un tratamiento aportado sobre originales irremplazables, a menudo únicos y de un gran valor artístico, religioso, histórico, científico, cultural, social o económico. El valor de tales objetos reside en el carácter de su fabricación, en su testimonio directo en cuanto que documentos históricos y con ello en su autenticidad. Estos objetos “son la expresión significativa de la vida espiritual, religiosa y artística del pasado, a menudo documentos de una situación histórica, ya se trate de obras de primera importancia o simplemente de objetos de la vida cotidiana.” Etc.”.*

Varias han sido las medidas encaminadas a evitar la desaparición de originales. ⁵*“Algunas no pasan de ser desmesurados proyectos , como la hipotética burbuja de plástico con la que se quería cubrir el Partenón de Atenas, para salvaguardarle de la elevada contaminación de la capital ateniense . Otras, más realistas, se limitaron a una restauración artesanal o a su protección por cristales blindados y rayos infrarrojos como ahora se exhibirá el David”.*

Como establece el Código Deontológico⁶: *“Cuando el uso social de un bien cultural sea incompatible con su preservación, el Conservador - restaurador deberá dialogar con el propietario o depositario legal, haciendo una reproducción del objeto,*

-Herraez, J. A. y Rodríguez Lorite, M. A. *“Recomendaciones para el control de las condiciones ambientales en exposiciones temporales”*. Dirección General de Bellas Artes. Instituto de Conservación y Restauración de Bienes Culturales. 1991.

⁴Graf Adelman, G.S. *“ Restaurator und Denkmalpflege” in Nachrichtenblatt der Denkmalpflege in Baden - Württemberg, vol. 8, nº 3.* Documento del texto preparado por el Equipo de trabajo para la formación en conservación y restauración. Artículo: *“El Conservador - restaurador: Una definición de la profesión”*. Punto 3:” *Impacto y clasificación de las actividades del conservador - restaurador”*: 3.1., 3.2., 3.3.,3.4., 3.5., 3.6., 3.7. y 3.8. Págs. 5,6. Carta de Copenhague, Septiembre de 1984.

⁵Revista Natura, 1996. Pág.60

⁶*“ Conservadores - restauradores Europeos: Una nueva definición y un código deontológico de la profesión”. II Código Deontológico: 1. Principios generales para la aplicación del código. Artículo 16.* Ponencia de Pierre Mason, presidente de la “European Confederation of Conservator - Restores Organizations”, E.C.C.O. , sobre el papel de las asociaciones profesionales DE Conservadores - restauradores en el campo de la enseñanza , de la ética y la política cultural.

que será una solución intermedia apropiada. El Conservador - Restaurador deberá recomendar procedimientos de reproducción en orden a no dañar al original.”

Otra de las medidas, ha sido el de las reproducciones con las dificultades a las que antes hemos aludido, cuando, ahora por el contrario, la propuesta que se hace es conseguir, como ya también se ha dicho antes, la reproducción exacta de la obra original, es decir, una réplica del mismo.

Por lo que se refiere al campo de la restauración⁷, la línea que se presenta tendría una gran vigencia, desde el momento en que la aplicación de estos resultados conllevarían nuevos procedimientos de conservación - restauración (reproducción, consolidación, reintegración y fijación) de la obra de arte; así como la utilización de nuevos materiales, técnicas y productos que supondrían una reducción significativa en el tiempo a utilizar, así como en los costes, y todo ello sin que entrañe ningún riesgo para el hombre y el medio ambiente.

Es imprescindible destacar, que en todos estos métodos propuestos los originales no corren prácticamente riesgo alguno.

El tema que se presenta, tiene además un interés añadido por tratarse de una materia muy poco estudiada e investigada hasta el momento. *“La cooperación interdisciplinar es de una importancia primordial pues hoy en día el conservador - restaurador debe trabajar en tanto que miembro de un equipo. Así como el cirujano no puede ser al mismo tiempo radiólogo, patólogo y psicólogo, el conservador - restaurador no puede ser un experto en arte o en historia cultural y en química y/o en otras ciencias naturales o humanas. Como en el caso del cirujano, el trabajo del conservador - restaurador puede y debe ser completado por los resultados de análisis*

⁷ Este término se utiliza en este texto como un compromiso dado que la misma especialidad se denomina “restauración” en los países de lenguas románicas o germánicas y “conservación” en los países anglosajones. Artículo: “El Conservador - restaurador: Una definición de la profesión”. Punto 1: Introducción: párrafo 1.2. Pág. 5. Carta de Copenhague, Septiembre de 1984.

*escribir investigaciones científicas. Esta cooperación funcionará bien si el conservador - restaurador es capaz de formular sus preguntas de forma científica y precisa y de interpretar las respuestas en un contexto exacto”.*⁸

⁸ “El Conservador - restaurador: Una definición de la profesión”. Punto 3: Impacto y clasificación de las

Capítulo 1: Objetivos

CAPITULO 1

1. Objetivos de la investigación

Dentro de la **Teoría de la Restauración**, a mi entender, los dos objetivos principales que se quieren conseguir con la realización de un facsímil son:

1. - La **conservación de la información**. Es decir, asegurar la transmisión de la **información**. Mantener una copia de fidelidad por los posibles daños y factores que pueda sufrir el original. Que hubiese sido del cuadro de **Mantegna** si no se hubiese realizado una copia y que como sabemos está situada en nuestra Facultad de Bellas Artes, así como también tenemos un caso de vandalismo que produjeron a la copia de **“La Venus de Milo”**. En otras ocasiones hay que conservar la información porque hay una **demanda potencial** de la obra, como por ejemplo, **“La virgen de Covadonga”**. En estos casos es conveniente realizar un facsímil exacto que asegure su transmisión. Posteriormente trataré de forma más extensa este tema.

El **campo informativo** es de vital importancia, ya que este puede seguir existiendo aunque el **objeto** ya no exista. El **campo informativo** es social y el del **objeto** es íntimo. A su vez, el **campo informativo** puede generar atracción o repulsión. Hay objetos que son para guardarlos y no se pueden observar, pero los objetos que son para verlos hay que tener en cuenta su campo informativo.

Las **restauraciones** afectan al **campo informativo**. Si la restauración no interviene en el **campo visual**, no interviene en el **campo informativo** como por

actividades del conservador - restaurador 3.8. Pág. 6. Carta de Copenhague, Septiembre de 1984.

ejemplo, la consolidación. El **campo informativo** no es solo de captación **visual**, es también lo **conceptual** (lo que se puede pensar de la escultura o pintura).

El **campo informativo** es muy amplio, puede ser histórico, estético o visual, conceptual, científico, plástico, táctil, etc. El **campo informativo plástico**: el arte es una optimización. ¿Qué elementos ha utilizado el artista?. Se debe analizar un objeto por los recursos plásticos que tiene en sí y los que exige a los demás. Se podría decir, que en la medida en que un objeto plástico incrementa sus recursos, facilita al observador la contemplación, al mismo tiempo el artista exige al espectador, que ponga en práctica todos sus recursos perceptivos. Se puede analizar una obra en cuanto a cantidad de recursos. Si el autor usa pocos recursos, exige más a los espectadores. Los que trabajamos en este campo, sabemos que no se debe poner oro falso porque no **respetaríamos** el **campo informativo** del objeto. Si lo aplicamos, el oro indica riqueza y el oro negro o falso, niega esa riqueza. Visualmente puede ser igual, pero conceptualmente no lo es.

2. - Como consecuencia del primer objetivo expuesto, se exige a la copia la **mayor similitud** con el original. Ya que si se realiza una reproducción mala, lo que se consigue es desprestigiar al original. No tienes que engañar al ojo, no se debe ni mejorar, ni empeorar, ni cambiar de tamaño, ya que también sería una falsificación. El facsímil debe ser igual debe ser una copia fidedigna del original. Debe haber un **protocolo técnico** en el que se debe tener como fin que el método sea rápido, fiable, en el que se realicen una serie de registros, etc., y que como todos conocemos no voy a especificar.

Ahora bien se pueden producir efectos secundarios con el facsímil, ya que si no dejamos datos (conservación de la información) al haber una similitud total, es cuando se puede producir una falsificación ya que cualquiera puede decir que se trata de un original.

La información del facsímil puede transmitirse por medio de distintos medios sensoriales:

1. - Transmisión óptica → brillo, color, etc., como fenómenos de captación visual. Puede crear una desilusión, si piensas que está hecho de un material y descubres que no es así.

2. - Transmisión acústica → Deben sonar igual que el original. La respuesta física es interesante. A su vez podemos encontrar otro tipo de informaciones dentro de ésta, como son los facsímiles de **información táctil** que tienen que tener una respuesta idéntica (si es frío al tacto, liso, rugoso, etc.), de **información olfativa**, etc.

Un intento de transmitir una información harían del facsímil una copia. Esto tiene una ventaja, pues si se destruye el original, existe una copia.

Ante la realización de un facsímil, siempre hay que establecer unos criterios:

- **Criterios de seguridad**
- **Criterios de economía**
- **Criterios de técnica**

Nos debemos configurar una **historia del arte**, esto no debe sonar extraño. Ya que sobre esa base de **historia del arte**, se sientan las bases de los recursos que nos van a hacer comprender los **objetos**. Para ello hay que documentarse.

a) Hay que tener una **teoría estética de la plástica** como punto de partida. El observador accede a la información contenida en el objeto. El sujeto entra en un campo observativo que es un espacio optimizado, que es el espacio plástico. Hay dos polos, el sujeto y el objeto. Existen dos recursos plásticos, el del observador y el del campo informativo del objeto.

b) Realizar un análisis y valoración de los contenidos plásticos en el objeto de arte. Hay que reconocer, valorar y describir los valores plásticos.

c) Analizar y valorar los contenidos plásticos en el sujeto de arte. Hablar de optimización perceptual implica la posibilidad de incrementar los recursos plásticos en la mente receptora del observador. Dados unos recursos plásticos totales, limitados, repartibles entre el objeto y el sujeto, es posible concluir que, si en alguna época se disminuye el número de recursos asignados al objeto, deberán aumentar en proporción los recursos puestos en juego por el sujeto como observador.

Hay que **analizar los contenidos plásticos como parte de la defensa del objeto de arte.** La presencia de valores plásticos constituye uno de los más eficaces medios de defensa de la obra de arte. Igualmente la inexistencia, la pérdida o el desconocimiento de los mismos, convierte en insegura la supervivencia de la misma. El proyecto de restauración debe incluir en sus actuaciones no sólo la intervención en el objeto y en la seguridad del entorno, sino también como puede intervenir para que el sistema defensivo del observador se reactive. Si los valores plásticos están ocultos, o si se han perdido, el observador y el responsable de esa obra de arte, deben poder conocer las soluciones antes de la intervención. Debe poder ver como se pueden recuperar y bajo que criterios.

Por las razones anteriormente descritas, este trabajo se expondrá desde una perspectiva teórica, en la que se abordará el examen y análisis del material bibliográfico existente y desde una perspectiva práctica, basada en una serie de procedimientos experimentales para demostrar dicha teoría. Dicha revisión bibliográfica, va dirigida a compartir información sobre los distintos métodos que se están llevando a cabo en una fase experimental, y que como he expuesto anteriormente, se basa en la obtención de copias (objeto de dicho trabajo) que reproduzcan fielmente obras originales compuestas de carbonato cálcico.

La bibliografía se aborda y está impuesta por la propia naturaleza del objeto de estudio. La correcta comprensión del mismo solo se aborda desde las técnicas y la perspectiva del especialista.

No pocas veces, el objeto científico aparece diluido y perdido en vaguedades por la falta de dominio de unas técnicas precisas y concretas.

Como es oportuno en este tipo de trabajos que versan sobre el estudio de una bibliografía sectorial, con el objetivo de presentar un estudio de conjunto acerca del tema seleccionado, los primeros pasos en mi labor, los he dedicado a recoger los trabajos que existen y muestran un cierto interés para su elaboración y de los que haré una breve exposición.

Una vez localizada y recogida una gran parte de la bibliografía existente, gracias a la ayuda y enfoque, proporcionados por el director de mi Tesis Doctoral, el Dr. Carlos Pereira⁹, así como también por la codirectora de la misma, la Dra. Sabine Castanier - Perthuisot, he comenzado mi labor investigadora, dirigida al análisis exhaustivo del material existente.

La fase experimental, en la que a través de ensayos en el laboratorio se verifica su viabilidad, espero que pueda dar lugar a trabajos sucesivos.

Por ello dicha investigación se dirigirá en distintas direcciones:

Aludiré por su gran interés, pero brevemente, la labor investigadora llevada a cabo por la codirectora de mi Tesis Doctoral la Dra. Sabine Castanier - Perthuisot¹⁰ del Laboratorio de Biogeología y Microbiología de la Universidad de Nantes (Francia), con la que he estado preparando las bases de investigación, referentes a la aplicación de las técnicas y procesos de Biomineralización y Carbonatogénesis cuyos resultados

⁹ Pereira Prado, Dr. Carlos. Departamento de (Pintura - Restauración). Universidad Complutense de Madrid.

¹⁰ Castanier, Dra. Sabine. Laboratoire de Biologie et Microbiologie. Université de Nantes. (France).

obtenidos hasta el momento han sido adquiridos con la patente francesa nº 8503517 CALCITE, S. A., que financia la investigación del grupo de investigadores del que formo parte. A su vez, dos laboratorios están comprometidos con este proyecto y están trabajando en colaboración con el profesor **Gasser** del **Instituto Pasteur**.

La empresa francesa, ha recurrido a una bacteria calcificante, que interviene directamente precipitando los carbonatos mediante mecanismos membranares, en los que se producen intercambios de iones. Actualmente se continua investigando otro tipo de ensayos, pero ya se encuentra en uso comercial.

Otro ensayo a realizar sería, tomar el objeto original compuesto de carbonato cálcico y proceder a su adhesión mediante lechadas de la bacteria (*Bacillus Cereus*) utilizada en estos ensayos. Esto abre otra serie de campos de investigación, ya que como se ha dicho en la introducción, podría aplicarse en la restauración de pinturas murales, así como en la consolidación y reintegración de obras de arte.

A su vez como se verá a través de la revisión bibliográfica, podremos realizar otra serie de ensayos, ya que la finalidad científica perseguida con esta revisión, es un mejor conocimiento del método y que solo se pueden realizar desde técnicas precisas y concretas que solo posee el especialista.

Todas estas pruebas experimentales se realizan sobre muestras concretas, que nos permitan comprobar los criterios de seguridad, economía, técnicos y temporales, y a su vez poder llevar a cabo controles físico - químicos al mismo tiempo que estéticos.

Si bien mi línea de trabajo parte y se basa en los tratamientos anteriormente mencionados, ello no quiere decir, que sobre la base de los resultados que se vayan obteniendo, no sea necesario abrir nuevas líneas de investigación.

Capítulo 2 : Estado de la cuestión

CAPITULO 2

ESTADO DE LA CUESTION

2 . Introducción

La deposición de material inorgánico en un cuerpo vivo, generalmente en forma de sales de calcio o sílice, es un fenómeno corriente. Comienza por la aparición de pequeñas partículas aisladas, cristalinas o no cristalinas, cuya forma tiene poca o ninguna relación con la estructura del organismo; esqueletos de los corales y las exquisitas formas, matemáticamente regulares, como diatomeas, radiolarios, foraminíferos y esponjas, el esqueleto despliega una extraordinaria variedad y belleza, bien sea por la forma intrínseca de los elementos constituyentes, bien por la simetría geométrica con la que están conectados y ordenados.

Con respecto a la forma de estas diversas estructuras debemos considerar dos problemas distintos, que se funden uno con otro aunque son teóricamente diferentes. Es posible que la forma de la espícula u otro elemento esquelético dependa solamente de su naturaleza química, como por ejemplo para tomar un caso sencillo pero no único , cuando es puramente cristalina; también puede suceder que el material inorgánico se vaya depositando de acuerdo con las formas adoptadas por las células , tejidos u órganos, amoldándose así al organismo vivo; y pueden existir estados intermedios en los que ambos fenómenos se den simultáneamente, con las fuerzas moleculares actuando en conjunción con las otras fuerzas inherentes del sistema.

Mientras nos mantengamos en un nivel puramente químico, el tratamiento del problema será muy breve; principalmente porque aún se han hecho muy pocas investigaciones especiales al respecto, e incluso los hechos principales se conocen de

modo todavía de modo bastante imperfecto. Una cosa está al menos clara: que los fenómenos que vamos a considerar penetran profundamente en el campo de la química de coloides, y especialmente la parte de esta ciencia que estudia los coloides en conexión con fenómenos superficiales. Correrá a cargo de los especialistas en microbiogeología, en física y química de los coloides la tarea de aclarar algo más nuestro problema.¹¹

El problema esencial es el de la cristalización en presencia de coloides. En las células de las plantas se encuentran verdaderos cristales con relativa abundancia, compuestos en la mayoría de los casos de oxalato cálcico. Por ejemplo, en el tallo y raíz del Ruibarbo, en el pecíolo de Begonia y en incontables casos más, unas veces en el interior de la célula, otros en la sustancia de la pared celular, encontramos cristales grandes y bien formados de esta sal. Su variedad de formas, que son extremadamente numerosas, representa simplemente las diversas formas cristalinas de la sal misma, y pertenecen a los dos sistemas, cúbico y monoclínico, en los que se sabe que esta sal cristaliza, adoptando uno u otro según la cantidad de agua de cristalización. Cuando el oxalato cálcico cristaliza según el último sistema (cosa que hace cuando su molécula está combinada con dos de agua) los cristales microscópicos tienen la forma de finas agujas y pueden producirse artificialmente cuando se hace cristalizar la sal en presencia de glucosa o de dextrina¹².

Por otra parte, el carbonato cálcico, cuando aparece en las células vegetales (un fenómeno muy frecuente; por ejemplo, en los cistolitos de las urticáceas y acantáceas, y con especial abundancia en Melobesia y otras algas calcáreas o “pétreas”), aparece en forma de pequeños gránulos redondeados, cuya estructura cristalina inherente sólo queda de manifiesto (como la de una concha de molusco) bajo la luz polarizada. En los

¹¹ Existe mucha información referente a la composición química y estructura mineralógica de las conchas y otros productos orgánicos, en H. C. Sorby. *Proc. Geol. Soc.*, 1879, pp. 56 - 93; pero Sorby no se dio cuenta de que la asociación con materia “orgánica” o con cualquier materia coloidal, viva o muerta, introducía una nueva serie de fenómenos puramente físicos.

animales, los esqueletos de carbonato cálcico aparecen en multitud de formas, de las que sólo mencionaremos algunas de las más aparentes. Las espículas de las esponjas calcáreas son cuerpos trirradiales, u ocasionalmente tetraradiales, con radios puntiagudos y sin una apariencia cristalina en el exterior, pero con una estructura interna claramente cristalina. Entre los zoófitos alcionarios encontramos una gran variedad de espículas¹³, que a veces tienen la forma de varillas rectas y delgadas, otras veces son placas aplanadas y más o menos estriadas, y con frecuencia son simples agrupaciones desordenadas de microcristales en forma de concreciones redondeadas o ramificadas, con superficies rugosas o granulosas¹⁴. Un tercer tipo, que aparece en manifestaciones muy diferentes, como pueden ser una perla o el hueso del oído de los peces óseos, consiste en un cuerpo más o menos redondeado, unas veces esférico y otras aplanado, en el que la materia calcárea se ha depositado en capas concéntricas, con alternancia de zonas más densas y más claras.

En el desarrollo de una concha de molusco y en la calcificación de un huevo de ave o de un caparazón de cangrejo, aparecen pequeños cuerpos esferoidales con una estriación concéntrica similar; pero en lugar de quedar separados, se agrupan apretadamente unos con otros, formando así un diseño hexagonal.

En algunos casos, el carbonato de calcio, al ser disuelto por un ácido, deja una pequeña cantidad de residuo orgánico; en muchos casos puede que existan pequeñas cantidades de otras sales, como fosfatos de calcio, amonio o magnesio. En la mayoría, si no en todos los casos, el desarrollo de la espícula o concreción está tan asociado de algún modo con las células vivas que es fácil que demos por supuesto que su forma se debe a la actividad constructiva o plástica de éstas.

¹² Vesque, Julien. "Sur la production artificielle de cristaux d'oxalate de chaux semblables à ceux qui se forment dans les plants". *Ann. Sci. Nat. (Bot.)*(5), 19 (1874), 300 - 13.

¹³ Kölliker, *Icones Histologicae* (1864), p. 119, etc.

¹⁴ En algunos casos - raros - presentan un solo eje óptico y se comportan como cristales individuales: Schmidt, W. J., *Arch. Entw. Mech.* 51 (1922), 509 - 51.

Sin embargo, la apariencia de una asociación directa con las células vivas puede muy bien ser engañosa, ya que como regla general la verdadera **precipitación** no tiene lugar en un tejido vivo, sino en tejidos muertos o al menos inactivos¹⁵; es decir, en el “material forme” o matriz que se acumula alrededor de las células vivas, o en los intersticios entre éstas, o muy frecuentemente en la pared o membrana celular, y no en la sustancia del protoplasma. No nos atreveríamos a afirmar que esta regla carece de excepciones, pero aún así tiene gran importancia y volveremos a considerarla¹⁶.

Asociado con esto va el hecho de que al menos en algunos casos el organismo puede seguir viviendo sin perjuicio aparente de su salud cuando el material con el que debe fabricar sus espículas o su caparazón es escaso o incluso inexistente. Así, los huevos de erizo de mar criados en agua sin calcio se desarrollan con aparente buena salud, y dan lugar a larvas que carecen del esqueleto normal de varillas calcáreas; en consecuencia, los largos brazos característicos de la larva pluteus, que estas varillas deberían sostener y extender, no aparecen en absoluto.¹⁷ De forma similar, si se mantienen varias generaciones de foraminíferos en la misma agua, agotando gradualmente el calcio de la misma, sus conchas se hacen hialinas y transparentes, y quedan reducidas a una mera película quitinosa; por otra parte, en presencia de un exceso de calcio, las conchas también se alteran notablemente, reforzándose con diversos rebordes u ornamentos, y llegando a asemejarse a las de otras variedades, e incluso a las de otras “especies”¹⁸.

¹⁵ En un interesante artículo de Robert Irvine y Sims Woodhead, sobre la “*Secreción de carbonato de calcio por los animales*” (*Proc. Roy. Soc. Eding.* 15, 308 - 16; 16, 324 - 51, (1889 - 90) se dice (pág. 351) que “las sales de calcio, en cualquiera de sus formas, se depositan *sólo* en tejidos sin actividad vital”.

¹⁶ El tubo de **Teredo** no presenta rastros de materia orgánica, sino que se compone de cristales prismáticos irregulares: toda la estructura “es idéntica a las de las pequeñas venas de calcita que aparecen en los cortes de rocas”. (Sorby, *Proc. Geol. Soc.* 1879, p. 58). Este, por lo tanto, parece ser un caso algo excepcional, de caparazón depositado completamente fuera de la capa externa de sustancia orgánica del animal.

¹⁷ Pouchet y Charbry, *C. R. Soc. Biol. Paris*(9), 1 (1889), 17 - 20; *C. R. Acad. Sci. Paris*, 108 (1889), 196 - 8.

¹⁸ Heron - Hallen, *Phil. Trans. B*, 206 (1915), 262.

2. 1. Formación de concreciones en ausencia de organismos vivos

Otra línea de investigación, fue la propuesta por **Stéphane Leduc**, el cual intentó la formación de espículas o concreciones similares, en ausencia del organismo vivo. Las reacciones implicadas se situaban en los límites de la físico química, las condiciones reales de cada caso pueden ser tan complejas, sutiles y delicadas que sólo en contadas ocasiones, y sólo en los casos más sencillos, se ha conseguido imitar con éxito los objetos naturales. Dicho intento forma parte de un amplio campo de la investigación, por medio del cual **Stéphane Leduc** y otros trataron de producir por medios sintéticos formas similares a las de los seres vivos; pero constituye una parte circunscrita y bien definida de aquella amplia investigación.

De la bibliografía obtenida comenzaré destacando la obra **Stéphane Leduc** y su tratamiento de “**los crecimientos artificiales**”, en la que se encuentran los antecedentes de este trabajo. Para ello es necesario hacer referencia de su obra:

2. 2. Los mecanismos de la vida¹⁹

En su obra abundan las referencias a trabajos sobre la ‘**reproducción artificial de formas orgánicas**’. Los crecimientos artificiales de **Leduc** se consiguieron principalmente introduciendo sales de metales pesados o elementos alcalinotérreos en soluciones que forman con ellos una “membrana de precipitación”, como sucede cuando se introduce sulfato de cobre en una solución de ferrocianuro.

Cuando por medios físicos - químicos o biológicos obtengamos configuraciones similares, por ejemplo, a los fenómenos de la división nuclear, u ordenaciones similares

¹⁹ Leduc, Stéphane. “*Mechanism of life*”. 1911. Thompson, D’Arcy. “*Sobre el crecimiento y la forma*”. págs. 130-135. Editorial Blume, 1980.

a un mosaico de células hexagonales, o un grupo de vesículas que se asemejan a algún tejido o agregado de células, habremos demostrado uno de los argumentos de este trabajo de investigación.

2. 3. Consolidación de la calcita, empleando macromoléculas de matrices orgánicas de las conchas *Mytilus Californianus*

Desde otras perspectivas, otros autores proyectan sus estudios hacia otros campos de investigación, entre los que cabe destacar los realizados por **Piero Tiano**²⁰. Actualmente es investigador del Centro de Estudios sobre las Causas de Deterioro y Métodos de Conservación de Obras de Arte del Consejo de Investigación Nacional (CNR). Sus principales intereses en la investigación se centran en el desarrollo de nuevos métodos para el examen científico de obras de arte en piedra y el control biológico de la herencia cultural. Entre sus obras publicadas destacaré:

1) “Stone reinforcement by calcite crystal precipitation induced by organic matrix macromolecules.”²¹ (Refuerzo de la piedra por precipitación de cristales de calcita.)

EXTRACTO.-

*“La corrosión por agentes atmosféricos de los monumentos de piedra tiene como resultado la lixiviación de la calcita, con un consecuente incremento de la porosidad y una disminución de la integridad de la roca. En un nuevo método de consolidación, se emplea macromoléculas de matrices orgánicas extraídas de las conchas del *Mytilus californiano*, para inducir la precipitación del carbonato cálcico por dentro de los poros de la piedra. El procedimiento ha sido ensayado en el laboratorio con muestras*

²⁰ Tiano, Piero. *CNR - Opere d'Arte, Via G. Capponi 9, 50121 Florencia, Italia.*

²¹ Tiano, Piero. *“Stone reinforcement by calcite crystal precipitation induced by organic matrix macromolecules”. Studies in Conservation. Volume 40. (1995). N° 3: pp. 171 - 176.*

de piedra caliza y dolomita bioclásticas, midiendo los cambios en la porosidad total, la cantidad de agua absorbida y la cohesión superficial”.

“Analizando todos los datos de los diferentes experimentos, se puede ver que la precipitación de los nuevos cristales de calcita, dentro de la porosidad de una piedra, producen un efecto más relevante y duradero cuando la matriz orgánica MyC²² está presente. En realidad, esta preparación conlleva una ligera disminución en la porosidad y en la cantidad de agua absorbida por capilaridad. Parece también implicar un incremento en la cohesión superficial.

Estos resultados han sido obtenidos trabajando sobre especímenes de piedra bajo condiciones de laboratorio controladas. En vista de la seria dificultad de la preparación de las proteínas de la matriz orgánica de la concha, es necesario ofrecer otras consideraciones al procedimiento y al tipo de materiales de inicio a utilizar en este tratamiento, manteniendo la precipitación de calcita bio - inducida, pero cambiando la naturaleza de las macromoléculas implicadas”.

Por último expondré la línea de investigación escogida para la realización de éste trabajo.

2. 4. “Las bacterias arquitectas”²³

La exposición de la piedra calcárea a las poluciones urbanas e industriales, acelera las alteraciones naturales, cuya víctima es ella, el agua de lluvia es el agente principal de las poluciones atmosféricas y biológicas. La epidermis protectora, llamada comúnmente “el calcín”, se fragiliza y pierde su papel de protección con el transcurso del tiempo. Las

²² Matriz orgánica de *Mytilus californianus* (M y C), extraída y caracterizada como se ha informado en : $20\mu\text{gml}^{-1}$ (en $\text{CaCl}_2 \bullet 2\text{H}_2\text{O}$ 7,5mM).

²³ Castanier, S., Oriol, G., Levrel, G., Loubiere, J. F. “*Les bactéries architectes*”. Oré n° 1: pp. 58 - 62.,sept. 1996.

soluciones actuales, apuntan a que la superficie en la piedra vuelve a ser impermeable al agua (productos hidrófugos) preconizan el empleo de resinas sintéticas que se polimerizan en el interior de los poros de la roca. Hoy día, se experimenta una nueva solución: se utiliza la capacidad natural que tienen ciertas bacterias, no patógenas para fabricar la calcita. Esta es la utilización específica de la biomineralización o **carbonatogénesis**.

2.4.1. Una nueva ciencia: La Microbiogeología

Desde hace unos veinte años, en las fronteras de las ciencias de la vida y del mineral, una nueva disciplina, la microbiología, permite explicar como los micro - organismos juegan un papel fundamental en la producción de precipitados carbonatados. A este fenómeno se le denomina **biomineralización o carbonato génesis**. La utilización de la carbonato génesis dentro de una perspectiva industrial, ha sido desarrollado en los años 1980 por un equipo de investigadores de la Universidad de Pierre y Marie Curie. El procedimiento consiste en hacer fabricar por algunas bacterias calcificantes, un calcín protector en la superficie de las piedras. Esta idea, es el resultado de un conjunto de conocimientos fundamentales y de observaciones experimentales empíricos. Este equipo trabaja en el cuadro del departamento de Geodinámica de los medios continentales sobre la comprensión de fenómenos climáticos remotos, la paleo climatología. En efecto, se forma en la interfase roca - atmósfera, algunas pátinas y costras naturales, llamadas también calcín. Estas se acumulan en finos micro lechos. Su contenido abarca algunas marcas características de un entorno específico originario de un periodo determinado (algas, hongos, pólenes, granos de cuarzo etc.). Las concreciones estudiadas y

particularmente las que proceden de medios extremos como el gran norte groenlandés o el desierto sahariano, han sorprendido siempre a los investigadores por su resistencia a la erosión y su dureza. Publicados en 1965, los trabajos de **M. Mamillan** han establecido la importancia del calcín sobre los edificios. Algunas medidas precisas, mostraban que esta piel protectora de la roca estaba a la vez más dura, menos porosa y más densa que su parte sub - yacente.

Paralelamente **J. Pochon** del Instituto Pasteur y **C. Jatton** del Laboratorio de investigación de monumentos históricos, ponían en evidencia las actividades bacterianas en el seno de la piedra. Este trabajo de pionero, demostraba la importancia de los factores biológicos dentro de la alteración de la piedra y el hecho que, como los seres vivientes, el material pedregoso vive. Más antigua y más empírica, aún, es la experiencia de los obreros de las canteras de calcita. Sabían que debían hacer “envejecer” las piedras recientemente sacadas del banco antes de enviarlas para la construcción. Por esto, las conservaban tal cual, sometidas a la intemperie durante varios meses, a veces hasta algunos años. Durante ese lapso de tiempo, ante la ignorancia de todos ellos, la carbonato génesis bacteriana intervenía, estimulada por una flora calcificante. Este proceso biológico creaba el calcín protector, por otra parte había intervenido entonces el origen de la roca por ella misma. De ahí la idea de aplicar el proceso bacteriano de fabricación de calcita para proteger las piedras aún en obras de monumentos históricos. Después de la purificación de las cepas y optimización de los líquidos nutritivos indispensables para su desarrollo, la primera gran aplicación de este procedimiento revolucionario, fue efectuado en la Iglesia de Saint - Medard de Thouars, (Francia).

2. 4. 2. La Carbonatogénesis

Todas las bacterias no sirven para fabricar el carbonato, pero aquellas que saben hacerlo, efectúan una precipitación activa o una precipitación pasiva. La precipitación

pasiva pone en juego diversas vías metabólicas. La amonificación de los aminoácidos (ver figura 1), del cual el producto final, es esencialmente NH_4^+ , provoca una basificación del micro medio. Esta vía sólo funciona en presencia de oxígeno y materia orgánica y las bacterias que la ponen en juego, son micro - organismos aeróbios. La reducción de los nitratos, afluye al mismo resultado: esta vía funciona en presencia de materia orgánica y de nitrato y cuando la tensión en oxígeno es débil pero no nula. Las bacterias que lo efectúan son aerobias, anaerobias facultativas.

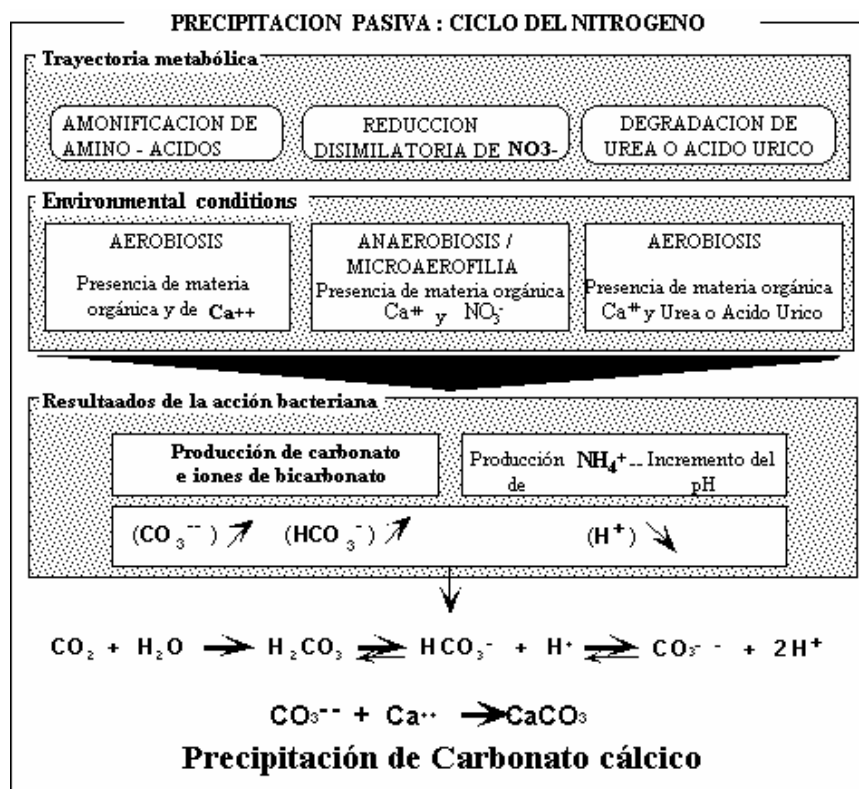


Fig. 1. Precipitación pasiva: Ciclo del Nitrógeno

La reducción de los sulfatos o sulfato – reducción (ver figura 2) no funciona más que en anaerobiosis y en presencia de materia orgánica y de sulfato: es el lote de un grupo de bacterias particulares, las sulfatos - reductoras que son inmoladas por el

oxígeno. El producto final es el H_2S , que es un gas ácido muy volátil. Su escape hacia la atmósfera provoca una basificación del medio.

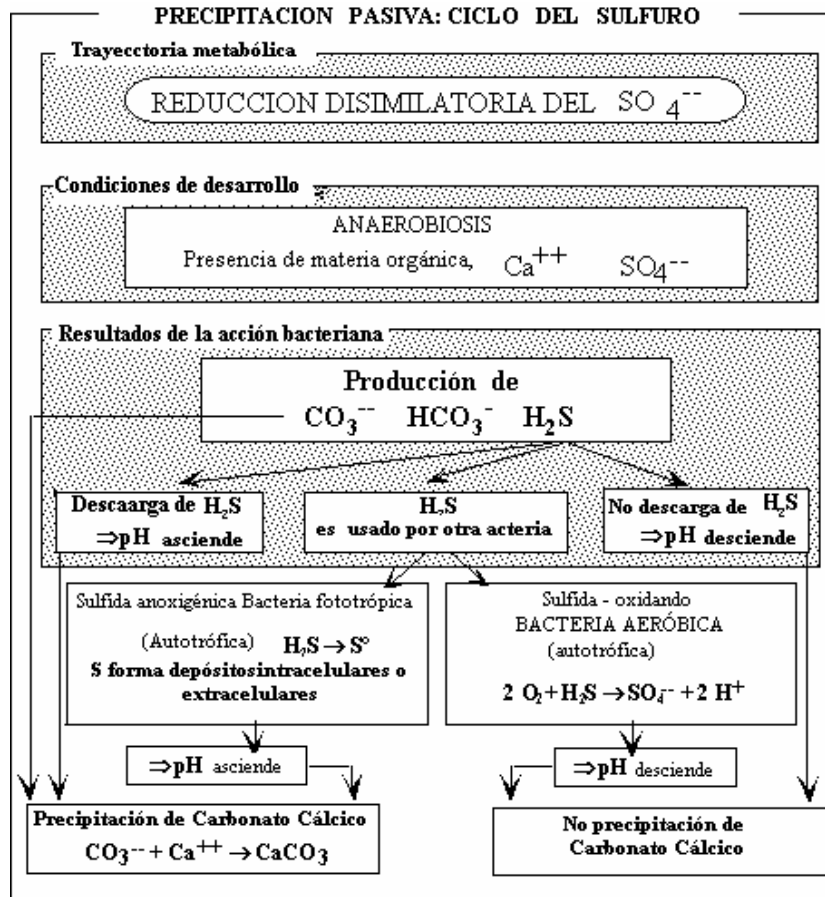


Fig. 2. Precipitación pasiva : Ciclo del Sulfuro.

La precipitación activa, pone en juego esencialmente, fenómenos de cambios membranarios. Este proceso ha sido puesto en evidencia entre bacterias heterotrofas aerobias.

Al lado de estos procesos principales, otras actividades biológicas minoritarias, pueden ocasionar la fabricación del carbonato. Las cianobacterias (**ver figura 3**) por su actividad fotosintética (toma CO_2 del medio) desplazan también el equilibrio de los

hidrocarbonatos y pueden por consiguiente contribuir con una concentración de carbonato.

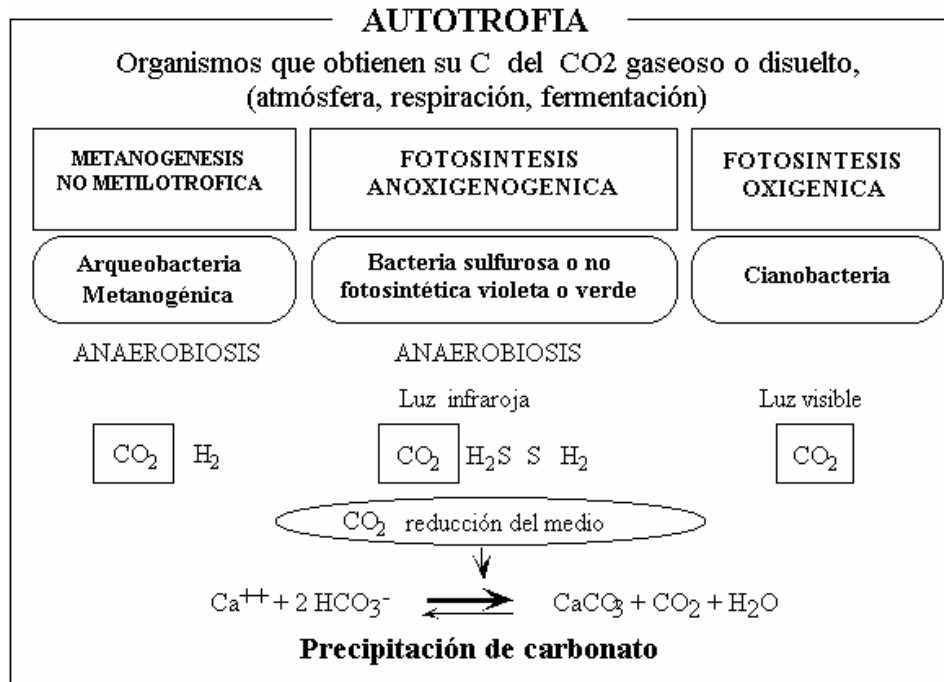
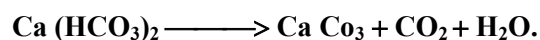


Fig. 3. Esquema de la **carbonato génesis autotrofa**.

Cualquiera que sea el proceso empleado por las bacterias, la carbonato génesis bacteriana, puede traducirse por el desplazamiento del equilibrio de los hidrogeno carbonatos:



En todas sus primeras etapas, la carbonato génesis, genera un carbonato (de calcio y/o magnesio) amorfo y fuertemente hidratado, precursor de la forma cristalográficamente reconocido en difracción de rayos X. Las bacterias lo precipitan bajo formas diferentes. Algunas lo depositan bajo la forma de un capullo que rodea la célula. Seguidamente las bacterias se organizan en edificios biocristalinos, obedeciendo poco a poco, a las fuerzas y a las leyes de la cristalografía. La diversidad de vías

metabólicas puestas en juego, y por consecuencia la diversidad de bacterias implicadas en estos procesos, muestran que la fabricación de carbonato por las bacterias es un fenómeno muy común en la escala de nuestro planeta. Los microorganismos pueden vivir en contextos geográficos variados. Los encontramos por ejemplo, en Francia en las grutas de Clamouse en el Hérault o en las carreras de la Isla de Adam, en la región parisina; en Pamukale en Turquía, en los manantiales hidrotermales; en Bolivia, en las lagunas saladas del antiplano como Pastos Grandes. La presencia de materia orgánica es un profundo estimulador. Pero en los medios sin materia orgánica, una precipitación puede hacerse bajo la acción de las cianobacterias²⁴, con tal de que tenga luz al menos puntualmente. El agua es otro elemento importante, su presencia puede no ser más que episódica también. De forma general, es fundamental para las bacterias el aporte por el medio líquido, para el transporte de los elementos necesarios para la vida.

2.4.3. Eficacia de la Biomineralización natural o Carbonatogénesis

Las bacterias calcificantes intervienen directamente precipitando los carbonatos mediante mecanismos membranarios en los que se producen intercambios de iones. Actúan también de manera indirecta (se habla entonces de precipitación pasiva) gracias a reacciones metabólicas que, al aumentar la alcalinidad del medio, favorecen el desplazamiento del equilibrio de los hidrógeno carbonatos hacia una precipitación de los carbonatos ($\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2 \longrightarrow \text{CaCO}_3 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$). En las bacterias aerobias, ávidas de oxígeno, la transformación de los aminoácidos de la materia orgánica nitrogenada en compuestos amoniacales (esencialmente NH_4^+) y la reducción de los nitratos van en este sentido. Una liberación súbita del amoníaco y de los nitratos provoca la precipitación

²⁴ Ver figura 3, p. 23

deseada de los carbonatos. El procedimiento se basa totalmente en este efecto. La transformación de los aminoácidos funciona solamente en presencia de oxígeno del aire y solamente es eficaz en superficie. En profundidad, se manifiesta por la reducción de los nitratos que soporta contenidos de oxígeno menores. De ahí que ahora esté investigando y experimentando en Técnicas Artísticas Actuales de Restauración de Escultura y en el Laboratorio de Química de la Facultad de Bellas Artes de esta Universidad bajo la dirección de el Dr. Pereira Prado y la Dra. Castanier y con la ayuda y soporte científico de la microbióloga Dña. Irene Arroyo y la química Dña. M^a Luisa Gómez de el Instituto de Conservación y Restauración del Patrimonio Histórico, este punto en concreto, ya que se pretende que la bacteria calcificante sea eficaz también en profundidad, para la obtención de reproducciones.

Foto 1

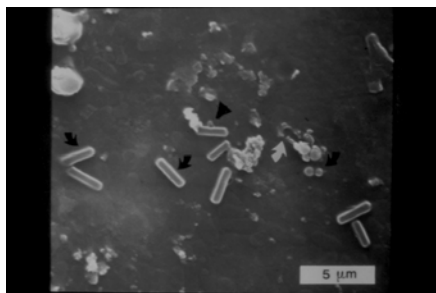


Foto 2

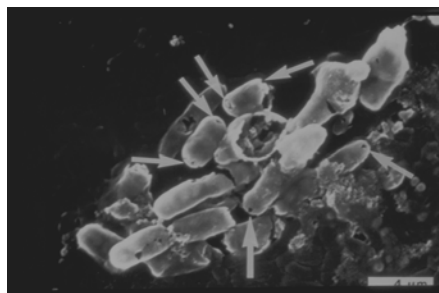


Foto 3

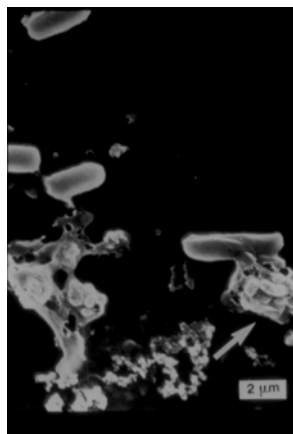


Fig. 4. Las tres fotografías muestran al *Bacillus Cereus*, bacteria encargada de producir la **carbonato génesis**.

La solución pulverizada aporta a las bacterias (una bacteria procedente de la flora telúrica) un alimento rico en carbono, nitrógeno y azufre, elementos indispensables para sus necesidades fisiológicas. Con el fin de estimular las reacciones, el líquido contiene también aminoácidos y nitratos, con una pequeñísima cantidad de cloruros de calcio y de magnesio.

En una primera etapa, las bacterias depositan un carbonato amorfo muy hidratado que forma una especie de velo blanco alrededor de cada célula. A medida que se renueva el medio nutritivo, unos ensamblajes complejos de cristales de calcita construyen una corteza nueva y duradera.

Foto 1

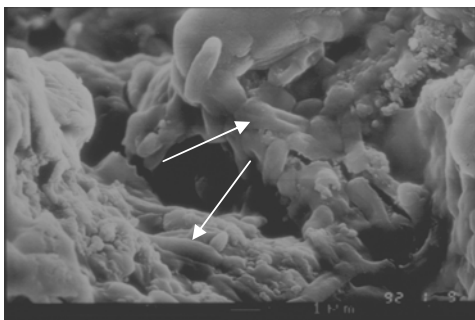


Foto 2

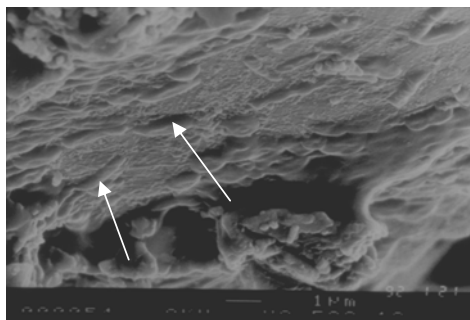


Foto 3

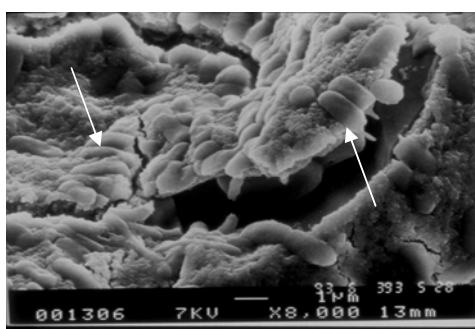


Foto 4

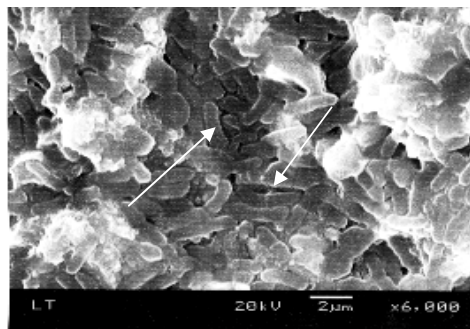


Fig. 5. Las tres fotos muestran como el *Bacillus Cereus* fabrica el manto de biocalcín

La ventaja nada despreciable en la técnica descrita aquí, contrario a los demás métodos tradicionales, ubica en su carácter ecológico y natural, ya que la protección tiende a incrementarse con el tiempo. La biocalcita producida, forma un ensamblaje cristalino protector, idéntico al del material de origen y de ese modo evoluciona en perfecta armonía con este²⁵.

La técnica de biomineralización, sobre la reconstrucción de un velo de calcita en la superficie de la piedra, debe permitir lógicamente, mejorar ciertas propiedades físicas de la roca, especialmente la permeabilidad. Las medidas de absorción de agua, que consisten en evaluar el tiempo de absorción de una cierta cantidad de agua, son una de las técnicas de control, **in situ**, de esta propiedad. Cuanto más se alargue este tiempo en relación con el obtenido sobre la piedra no tratada (lo que corresponde a una relación de la absorción del agua en un mismo tiempo de contacto) mejor será la protección de esta contra la penetración del agua²⁶.

En la selección de cualquier tratamiento de la piedra (hidrofugación, consolidación, biocidas, etc.) y otras acciones específicas previstas y productos de tratamiento, el hecho de no modificar el color original de la piedra, es un criterio de selección, que no hay que despreciar.

Como la apreciación a la vista de un color y de una eventual modificación de este es completamente subjetiva, ha sido indispensable describirlo por los valores de su donación cromática. Las reparaciones colorimétricas calculadas sobre los valores cromáticos, después de seis meses o un año de tratamiento, están para la mayoría por

²⁵ Castanier, S., Orial, G., Levrel, G., Loubiere, J. F. "*Les bactéries architectes*". Oré n° 1: pp. 62.[Sept. 1996.](#)

²⁶ Castanier, S., Orial, G., Levrel, G., Loubiere, J. F. "*Les bactéries architectes*". Oré n° 1: pp. 58 - 62.[Sept. 1996.](#)

debajo de dos puntos; lo que para las piedras del exterior, sometidas a algunas variaciones climáticas es fundamental²⁷.

La cura tiene un solo inconveniente, atrae los hongos que se nutren de los mismos alimentos que las bacterias. Pero las actuales mezclas nutritivas ya contienen una elevada dosis de antifúngico. Pero aún hay que hallar el punto de equilibrio²⁸.

Una de las aplicaciones de la bacteria que produce la calcita, es llevar a cabo, soluciones nutritivas, que son aplicadas todos los días, durante 15 días para alimentarlas y que creen el velo de calcín.

Otro factor importante para nuestro estudio y que hay que especificar es que, en la prelimpieza del material pétreo, debe ser excluido cualquier producto químico que puede inhibir el desarrollo de la bacteria.

La limpieza de monumentos históricos, usando tratamiento de Láser (desincrustación fotónica), ha sido uno de los más interesantes de los Laboratorios de Investigación de Monumentos Históricos de París. El inofensivo efecto del rayo láser en la superficie de la piedra, sugiere que sería el método ideal de prelimpieza, para utilizar en conjunto con el proceso de biomineralización²⁹.

En Junio de 1993, este método se introdujo en la fase de desarrollo tecnológico, gracias a la realización del primer prototipo en el mundo.

Otro factor a nuestro favor, que tiene que ver directamente con el estudio sobre la reproducción de piezas compuestas de carbonato cálcico y que se explicó anteriormente, es el de la experiencia que permite encaminarnos a una reflexión sobre las nuevas

²⁷ Castanier, S., Orial, G., Levrel, G., Loubiere, J. F. "*Les bactéries architectes*". Oré nº 1: pp. 61. [Sept. 1996.](#)

²⁸ Castanier, S., Orial, G., Levrel, G., Loubiere, J. F. "*Les bactéries architectes*". Oré nº 1: pp. 60. [Sept. 1996.](#)

²⁹ Orial, G., Castanier, S., Le Metayer, G. y Loubière, J. F. "*The Biomineralization: A New Process to Protect Calcareous Stone; Applied to Historic Monuments.*" Biodeterioration of Cultural Property 2, pp.

interpretaciones o medidas posibles con el seguimiento en tres dimensiones, como por ejemplo **llenar un hueco vacío**, principio de cualquier caso de **reproducción**. En teoría, la rugosidad de la superficie de una piedra no debe ser modificada después de un tratamiento, porque esta determina la nervosidad de la roca. Esta rugosidad, está caracterizada por la cuantificación de “pico”, de “cuencas” y de “surcos”, formando el relieve.

La patente, ha realizado un formato para su investigación, con el fin de hacer un uso más efectivo de su producto y finalizar la parte microbiológica para el mercado industrial.

Sí la facilidad de esta bacteria ha sido intensamente estudiada, probada y testada en laboratorio, continua siendo probada en el exterior, en una posición vertical y obteniendo una relación de las variaciones climáticas, para seguir estableciendo sus parámetros de viabilidad.

Para cuantificar esta capacidad calcificante, han sido necesarios muchos ensayos, recogiendo muestras, catas de paredes tratadas (ensayo de absorción con pipa de agua) por acción y observación de capilaridad, usando un microscopio electrónico (SEM)³⁰.

Finalmente, está anticipado un gran campo de investigación en el que el proceso de biomineralización no se detiene solo en la protección de la superficie. Sino que podrá ser aplicado en estatuas, en medidas de protección y también como forma posible de restauración como: consolidación, morteros biológicos compuestos de bacterias carbonatógenas y de polvos de roca, encolado, fijación, pigmentación³¹ (**ver figura 6**) y

106. (1993). [The Proceedings of the 2nd International Conference on](#) Biodeterioration of Cultural Property (ICBCP - 2). October 5 - 8, 1992, Yokohama, Japan.

³⁰ Oriol, G., Castanier, S., Le Metayer, G. y Loubière, J. F. “*The Biomineralization: A New Process to Protect Calcareous Stone; Applied to Historic Monuments.*” Biodeterioration of Cultural Property 2, pp. 98 - 99 (1993). [The Proceedings of the 2nd International Conference on](#) Biodeterioration of Cultural Property (ICBCP - 2). October 5 - 8, 1992, Yokohama, Japan.

³¹ ³¹ Castanier, S., Oriol, G., Levrel, G., Loubière, J. F. “*Les bactéries architectes*”. Oré n° 1: pp. 62. Sept. 1996.

el tema que nos ocupa, el de reproducciones de piezas compuestas de carbonato cálcico (tanto en piezas aisladas como en piezas que tengan falta de materia y que deban ser reproducidas **in situ**, debido a su ubicación u otros motivos) y tantos campos que faltan por profundizar.

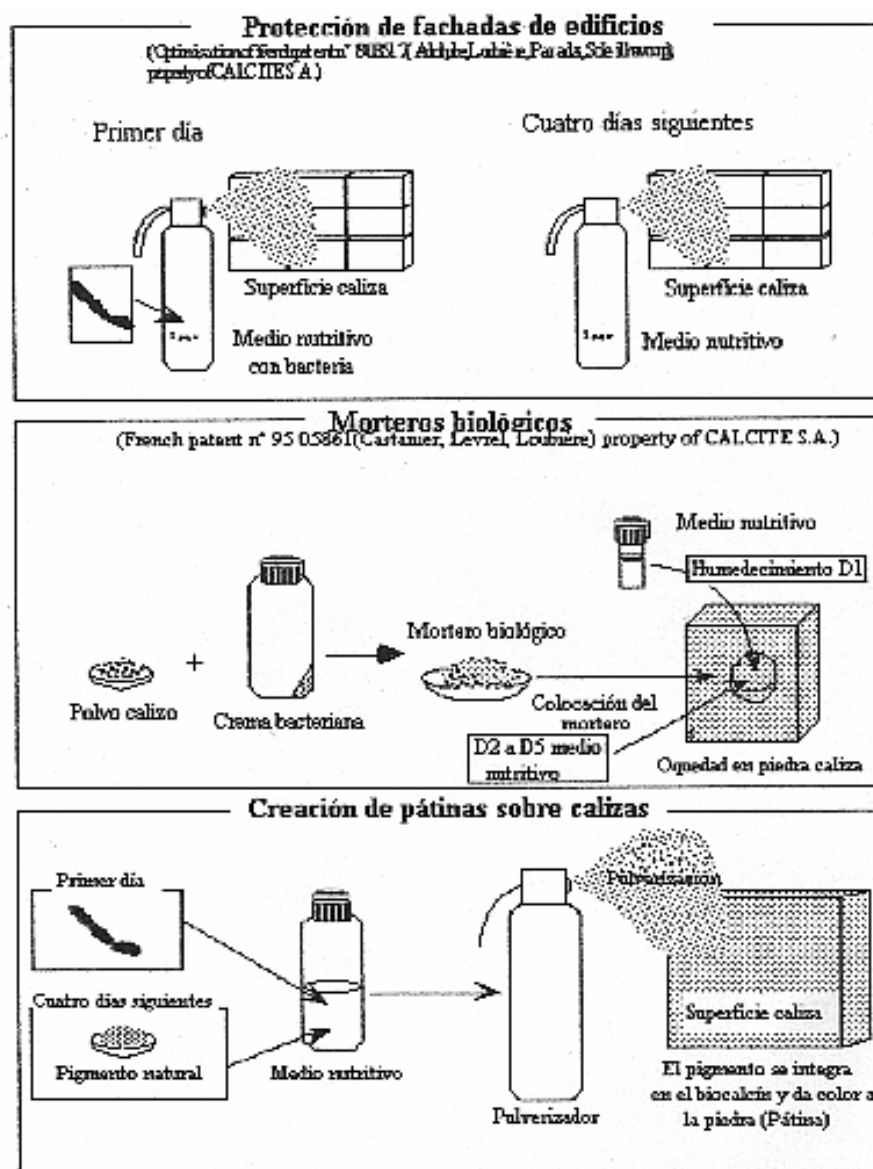


Fig. 6. Distintas aplicaciones del proceso de **Biomíneralización**.

Este principio de intervención minimalista, entra por consiguiente, perfectamente dentro del cuadro de la ética actual de la conservación - restauración, apuntando fundamentalmente a privilegiar antes que nada, la conservación preventiva.

Por último decir que, el uso de la biomineralización debería extenderse. El precio, equivalente al de los tratamientos hidrófugos, será competitivo. En cuanto a las bacterias, respetarán al hombre y el medio ambiente, completamente petrificadas por obra de ambos.

Foto 1



Foto 2



Foto 3



Fig. 7. Las dos primeras fotografías exponen, como se aplica el ***Mortero bacteriano*** para la consolidación de la piedra (Catedral de Amiens. Francia). La tercera fotografía muestra como se aplica la **Biomineralización** (escultura de la Catedral de Notre- Dame).

Capítulo 3 : Procedimiento experimental

CAPITULO 3

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Ensayos con diferentes moldes

3. Introducción

Los ensayos efectuados dentro de ésta parte experimental, van dirigidos a la utilización de un mortero determinado denominado, **Mortero nutritivo n ° 6** con el que se procederá a la inclusión de éste, en una serie de moldes realizados para dichos ensayos.

Dicho mortero se fabricó específicamente para la realización de esta investigación. Dada la complejidad de su composición, así como la utilización del mismo, la labor no ha resultado nada fácil. Pero al tratarse de ensayos de laboratorio cabía suponer que no se trataría de un camino de rosas.

Se ha realizado un trabajo exhaustivo que ha supuesto muchos ensayos pero también muchos errores y que poco a poco se han ido superando. Esto era debido al empeño y tesón que durante toda esta labor se ha mantenido, así como a la confianza que pusieron en mí, ambos directores de esta investigación.

3.1. Mortero para moldes: Mortero nutritivo n ° 6. (N. M. 6.) sólo para morteros

Previamente a la realización del **Mortero nutritivo n ° 6**, especificaré cuales han sido los productos a utilizar para la ejecución de dicho mortero. Previamente, se debía proceder a realizar el compuesto del cual, el “*Bacillus Céreus*”³² debía nutrirse.

Tabla n ° 1: Cantidades para la realización de **Nutrical n ° 6**.

NUTRICAL N ° 6				
H ₂ O (agua destilada o mineral)	1000 ml	*700 ml	50 ml	12,5 ml
Peptona	80 g	56 g	4 g	1 g
Extracto de levadura	80 g	56 g	4 g	1 g
CaCl ₂	92 g	64,4 g	4'6 g	1'15 g
Mg Cl ₂	2 g	1'4 g	0'1	0'025 g
KNO ₃	4 g	2'8 g	0'2 g	0'05 g
Actical	30 ml	21 ml	1'5 g	0'375 g
Natamicina	0,1 g	0,07 g	0'005	0'00125 g
NaOH (pH adaptado a 7,5)	-	-	-	-

***Para estos ensayos sólo necesitamos 700 ml**

Se utilizan las mismas proporciones para realizar el mortero.

Se pesaron todos los productos y se pusieron con agua en diferentes botellas de cristal. A continuación se procedió a su esterilización. Si se va a utilizar en el momento, no es necesario esterilizarlo ni incluir el fungicida (Natamicina o Benlate).

³² Bacteria procedente de la flora telúrica, de forma cilíndrica llamada bacilo. No se agrupan por sí mismas en diversos modelos de agrupación características de los cocos. Estas en concreto se agrupan en cadena (estreptobacilos)

**Tabla n ° 2 (Ensayo n ° 1 y
Ensayo n ° 2)**

ENSAYO N °	PIEDRA		Bacteria revivificada (24H)		NUTRICAL + polvo de piedra =		
	Tipo	Cantidad-µm	Gr	Nutrical 6	= N. M .6	Zeol	
1	COLMENAR	13,50g - 45µm	1 gr	5, 25 ml.	2, 25 ml	3, 1	
2	BERNUI	11,37g - 45µm	1 gr	5, 25 ml.	3, 25 ml	3, 1	
3	NOVELDA	11,37g - 45µm	1 gr	5, 25 ml.	3, 25 ml	3, 1	
4	SEPULVEDA	12,50g - 45µm	1 gr	5, 25 ml.	3, 25 ml	3, 1	
5	P. CALIZO	13,00gr - 45µm	1 gr	5, 25 ml.	3, 25 ml	3, 1	
6 *	MARMOLINA	12,25gr - 45µm	1 gr	5, 25 ml	3, 25 ml	3, 2	
7	G. NOVELDA	11,37gr - 45µm	1 gr	5, 25 ml.	3, 50 ml	3, 1	
8	NOVELDA	12,37gr - 125µm	1 gr	5, 25 ml.	3, 25 ml	3, 1	
9	COLMENAR	11,75gr - 45µm	1,5 gr	8 ml	2, 25 ml		
10	BERNUI	12,00gr - 45µm	1,5 gr	8 ml	2, 25 ml		
11	NOVELDA	11,66gr - 45µm	1,5 gr	8 ml	2, 25 ml		
12	SEPULVEDA	12,00gr - 45µm	1,5 gr	8 ml	2, 25 ml		
13	P. CALIZO	12,00gr - 45µm	1,5 gr	8 ml	2, 25 ml		
14 *	MARMOLINA	10,00gr - 45µm	1,5 gr	8 ml	1, 25 ml		
15	G. NOVELDA	11,33gr - 45µm	1,5 gr	8 ml	1, 25 ml		
16	NOVELDA	13,00gr - 125µm	1,5 gr	8 ml	2, 25 ml		

* En el caso de la Marmolina, no se tenía suficiente polvo de piedra y se añadió en el primer caso,

17 gr Zeolita y en el segundo caso, nada.

3.1.1. Ensayo n ° 1 y ensayo n ° 2

Los moldes que se utilizaron en estos ensayos fueron:

–Ensayo n ° 1 → Molde de monedas

–Ensayo n ° 2 → Molde de caras

Los moldes se realizaron con **Silastic RTV - 3481**³³.

3.1.2. Ensayo n ° 1 (Molde de monedas)

En el Ensayo N ° 1 se utilizaron 8 moldes de los 12 que tiene éste. Se disponía de 8 clases distintas de polvo de piedra: 7 clases de polvo de piedra de 45 μm ³⁴ de granulometría y 1 clase de polvo de piedra con 125 μm de granulometría (Novelda – Mortero n ° 8.) .



Fig. 8. Molde realizado en silicona de monedas españolas de 500 pesetas.

³³ **Silastic RTV – 3481 y agente de curado S – 81, 5% S /RTV – 3481.** FEROCA. PRODUCTOS INDUSTRIALES. C / Españolito, 11. 28010 MADRID.

³⁴ **MICROMETRO** n. m. Es el término empleado en el sistema internacional (S.I.) y expresado en μm . La palabra tiene dos significados según se acentúe: "micrometro" es la unidad de medida. De **micra** n. f. (gr. *Micros*, pequeño). Unidad de longitud, igual a la millonésima parte de un metro. **MICRÓMETRO** n. m. Instrumento graduado en aquellas unidades. Larousse – Bordas, S. A., Temáticos Larousse, S. A., Editorial Larousse – Planeta. "Diccionario Larousse 2000", tomo 10, p. 3821 y 3823 Barcelona 1998, 16 vols., y 2 actualizados.

-Los distintos polvos de piedra de que se disponían eran:

1. Colmenar - (45 μm)
2. Bernuí - (45 μm)
3. Novelda - (45 μm)
4. Sepúlveda - (45 μm)
5. Polvo Calizo - (45 μm)
6. Marmolina – (45 μm)
7. Novelda gris - (45 μm)
8. Novelda - (125 μm)

El medio nutritivo utilizado para estos morteros fue: **Nutrical n ° 6**.

Tabla n ° 3: Cantidades de *Bacteria revivificada* para realizar el **Mortero nutritivo n°6³⁵** (N. M. 6.).

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6	Peso total	Tiempo
50 g de mortero	2 gr	10,5 ml	12,5 gr	24 H - 48 H
25 g de mortero	1 gr	5,25 ml	6,25gr	24 H - 48 H

La **revivificación de la bacteria** se realizó en 24 horas. Después se preparó **25gr de mortero** para cada molde. En este caso se utilizó: *Bacteria liofilizada (revivificada)* junto con **Zeolita de 45 μm** , **polvo de piedra** y **Nutrical n ° 6³⁶**.

Se agregó **Zeolita** (Na [Al Si₂ O₆] • H₂ O) en este ensayo por que incrementa la dureza y almacena mucha agua que es muy buena para el **nutrimento de la bacteria**. Pero es la última vez que se utiliza por que cambia mucho el color de la piedra. Como almacena mucha agua se puso solamente 1 ml de **Nutrical n ° 6**.

³⁵ **N. M. 6..** Abreviatura inglesa utilizada para nombrar éste producto: Nutrical mortar n ° 6.

³⁶ Ver **tabla n ° 1**, p. 33

3.1.3. Realización de los morteros

Se realizaron los **morteros**³⁷ de *Bacteria liofilizada*.

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se debía mezclar bien, antes de añadir los otros componentes.
2. Se añadió el polvo de piedra, el algodón y finalmente el **Nutrical n ° 6**. (**N. M. 6**) poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 6**.
3. Se introdujo el mortero en el molde de las monedas. Se añadió 1 ml de **Nutrical n ° 6** (solamente 1 ml por que la Zeolita almacena mucha agua). Pero en el molde, no admitía más cantidad de **Nutrical n ° 6** (en un mortero normal cuando se ha aplicado en la piedra, se puede seguir aplicando **Nutrical n ° 6**, dos o tres veces al día ya que cuando aplicas el mortero en la piedra, la piedra es porosa y trabaja en perfectas condiciones.). Por eso, se tuvo que colocar encima, papel Joseph (papel de laboratorio.) .
3. Al día siguiente se introdujeron los moldes en la incubadora a una temperatura de 25⁰ C además de dos trozos de papel Joseph en la superficie de cada molde. Esto se realizó para que los morteros se secasen antes. Después se dejaron en la incubadora durante 8 días.
4. Pasados estos 8 días, se extrajeron los moldes de la incubadora y se preparó la **revivificación** de la bacteria para poder aplicar la **Biomineralización** sobre estos. Es mejor preparar la revivificación, 48 horas antes de su aplicación.

³⁷ Ver tabla n ° 1, p. 33

3.1.4. - Realización de la Biomineralización.

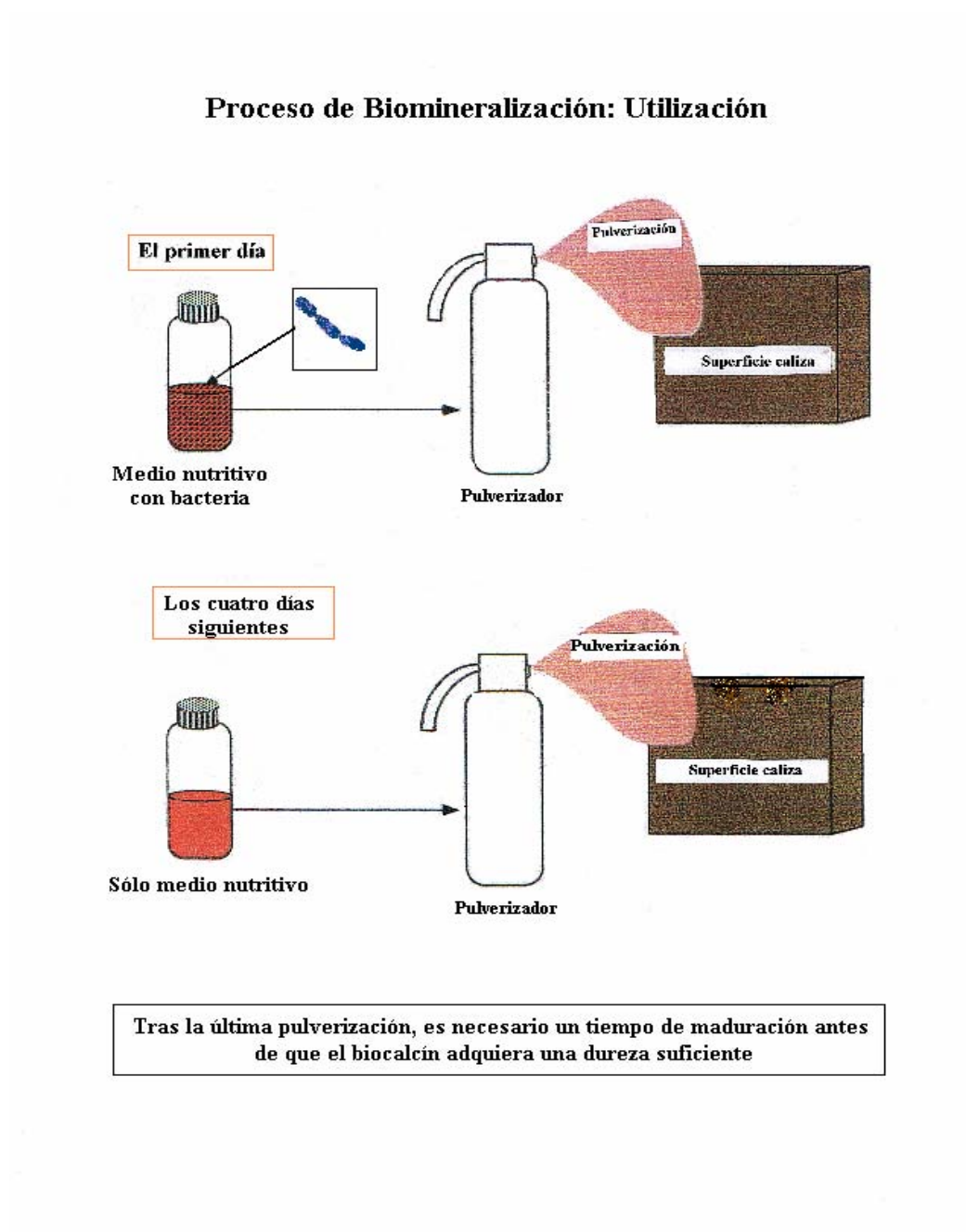


Fig. 9. Esquema de cómo se realiza el método de **Biomineralización**.

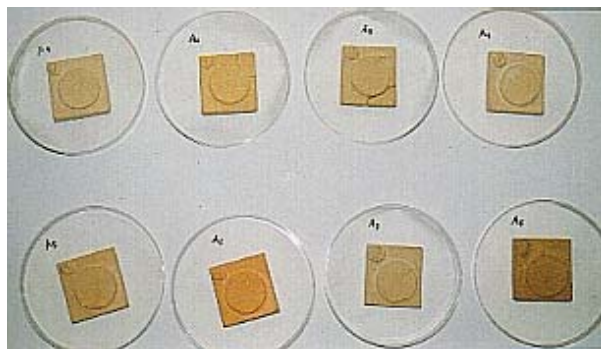


Fig. 10. Reproducción de las monedas de 500 pesetas preparadas para aplicarles la **Biomíneralización**.

El proceso de biomineralización consiste en pulverizar primero una suspensión de cultivo bacteriano (del tipo “*Bacillus Céreus*”, una bacteria procedente de la flora telúrica) sobre la piedra a tratar. Posteriormente, se procede a su nutrición con una solución pulverizada que aporta a las bacterias un nutriente rico en carbono, nitrógeno, azufre y otros muchos componentes indispensables para sus necesidades fisiológicas. El cultivo depositado se nutre cada 24 o 48 horas durante 5 días consecutivos.

En las condiciones mencionadas, las bacterias depositan un carbonato amorfo muy hidratado que forma una especie de velo blanco alrededor de cada célula, el “*biocalcín*”. A medida que se renueva el medio nutritivo, el “*biocalcín*” forma un complejo ensamble cristalino de calcita, construyendo una corteza nueva y duradera idéntica al material de origen, que lo protege y evoluciona en perfecta armonía con este. Este “*biocalcín*” asegura la protección de la caliza tratada, por una parte no interfiere en los intercambios gaseosos entre piedra y atmósfera y por otra limita la penetración de agentes de degradación. Se trata de una biomineralización natural al 100% y sin efectos secundarios.

La víspera por la tarde del primer día de tratamiento, los microorganismos liofilizados son prehidratados en el líquido nutritivo, es decir, se mezclaría a las 18 horas y se aplicaría a las 10 horas. Pero en laboratorio está comprobado que es mejor mezclarlo 24 horas antes y mejor aún, 48 horas antes porque la concentración de la bacteria, es cuando adquiere su fase exponencial de crecimiento de 10^{12} por m^2 (bacteria fresca). Con la ***Bacteria liofilizada*** y menor cantidad de tiempo, la concentración de crecimiento es de 10^8 a 10^9 de superficie a tratar, pero según se reduce el tiempo también se reduce su crecimiento 10^6 .

Posteriormente son pulverizados, de 12 a 16 horas más tarde, sobre la superficie a tratar. La pulverización debe realizarse a una presión inferior a dos bar³⁸ para no romper los cuerpos bacterianos.

La aplicación no puede realizarse más que con temperaturas superiores a 8° C.

Los cuatro días siguientes, el medio nutritivo (sin microorganismos) al que se habrá adicionado el activador, se pulveriza sobre la superficie a tratar. La pulverización del líquido nutritivo se realiza hasta la saturación, intentando evitar derrames. Las dos últimas manos pueden espaciarse en más de 48 horas.

Tabla n ° 4: Componentes y cantidades para preparar la **Biomineralización**. Siempre para preparar la **Biomineralización** se pone primero el agua, a continuación el **nutrimento normal**, el **Actical** y por último la ***Bacteria liofilizada***.

³⁸ En el Sistema internacional, unidad de presión y tensión que equivale a (10^5) 105 pascales: El bar corresponde a un millón de dinas por centímetro cuadrado. Larousse – Bordas, S. A., Temáticos Larousse, S. A., Editorial Larousse – Planeta. “*Diccionario Larousse 2000*”, tomo 2, p. 622, Barcelona 1998, 16 vols., y 2 actualizados.

BIOMINERALIZACIÓN

H ₂ O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical	Tiempo
1000 ml	1 gr	40 gr	10 ml	24 H - 48 H
100 ml	0,1 gr	4 gr	1 ml	24 H - 48 H

- Se utilizan **100 ml** por que no se necesita más cantidad. También se aplicó **Biomíneralización en el ensayo n ° 2 y en el ensayo n ° 3.**

Tabla n ° 5: Cantidades de producto para aplicar **Biomíneralización** durante 5 días cada 24 horas.

	H ₂ O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical
1^{er} día	100 ml	0,1 gr	4 gr	1 ml
2^o día	100 ml		4 gr	1 ml
3^{er} día	100 ml		4 gr	1 ml
4^o día	100 ml		4gr	1 ml
5^o día	100 ml		4 gr	1 ml

- El **Nutrical (normal)**, se puede hacer el día anterior y guardarlo en la nevera.

1. Pasados cinco días, se introdujeron los moldes en la incubadora durante 8 días para su secado. Posteriormente se extrajeron de la incubadora.

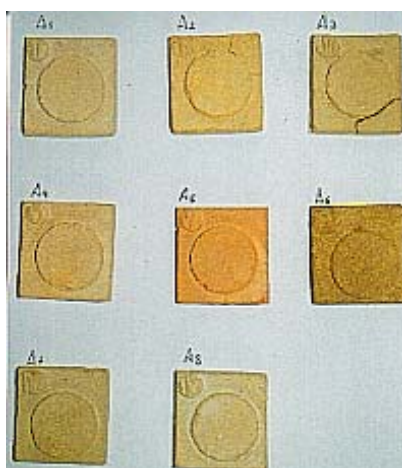


Fig. 11 . Monedas ya extraídas de la incubadora y secas.

3. 2. Ensayo n ° 2 (molde con distintos tipos de caras)

En el **Ensayo n ° 2** se utilizaron 8 moldes de los 12 que tiene éste. Se disponía de 8 clases distintas de polvo de piedra: 7 clases de polvo de piedra de 45 µm de granulometría y 1 clase de polvo de piedra con 125 µm de granulometría (**Novelda – Mortero n ° 16**) .



Fig. 12. Molde realizado en silicona de efigies indígenas.

-Los distintos polvos de piedra de que se disponían eran:

- | | |
|-------------------------------|----------------------------------|
| 1. Colmenar - (45 µm) | 5. Polvo Calizo - (45 µm) |
| 2. Bernuí - (45 µm) | 6. Marmolina - (45 µm) |
| 3. Novelda - (45 µm) | 7. Novelda gris - (45 µm) |
| 4. Sepúlveda - (45 µm) | 8. Novelda - (125 µm) |

El medio nutritivo utilizado para estos morteros fue: **Nutrical n ° 6**

*** Pero en este ensayo se utilizó como producto adicional, algodón. Así mismo, se incrementaron las cantidades de bacteria y Nutrical n ° 6.**

Tabla n ° 6: Cantidades de *Bacteria revivificada* para realizar el **Mortero nutritivo n ° 6**.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6	Peso total	Tiempo
50 gr de mortero	3 gr	16 ml	19 gr	24 H - 48 H
25 gr de mortero	1'5 gr	8 ml	9'5gr	24 H - 48 H

La **revivificación de la bacteria** se realizó en 24 horas. Después se preparó **25gr de mortero** para cada molde. En este caso se utilizó: *Bacteria liofilizada (revivificada)* con algodón (0'125 g), polvo de piedra y Nutrical n ° 6. (Ver tabla n ° 1).

Se agregó **algodón** en este ensayo por que incrementa la dureza y la estructura es mucho mejor. Debido a esto, había que aumentar la cantidad de bacteria y de **Nutrical n ° 6**.

3. 2. 1. Realización de los morteros

Se realizaron los morteros ³⁹.

Tabla n ° 7: Cantidades de *Bacteria revivificada* y **algodón** para realizar el **Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.)**

	Bacteria revivificada	Algodón
50 gr de mortero	19 gr	0,250 gr
*25 gr de mortero	9,5 gr	0,125 gr

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se debía mezclar bien,

³⁹ Ver tabla n ° 1, p. 33

antes de añadir los otros componentes.

2. Se añadió el polvo de piedra, el algodón y finalmente el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 6**
3. Se introdujo el mortero en el molde de las caras. Se añadió 2'5 ml de **Nutrical n ° 6**. Pero en el molde, no admitía más cantidad de **Nutrical n ° 6** (en un mortero normal cuando se ha aplicado en la piedra, se puede seguir aplicando **Nutrical n ° 6**, dos o tres veces al día). Dadas las circunstancias, se tuvo que colocar sobre el mortero papel Joseph (papel de laboratorio) que actúa como papel secante.
4. Al día siguiente se introdujeron los moldes en la incubadora a una temperatura de 25⁰ C además de dos trozos de papel Joseph, en la superficie de cada molde. Esto se realizó para que los morteros se secasen antes. Después se dejaron en la incubadora durante 8 días.
5. Pasados estos 8 días, se extrajeron los moldes de la incubadora y se preparó la **revivificación de la bacteria** para poder aplicar la **Biomineralización** sobre estos. Como ya se ha dicho, es mejor preparar la revivificación, 48 horas antes de su aplicación.

3. 2. 2. Realización de la Biomineralización

Tabla n ° 8: Componentes y cantidades para preparar la **Biomineralización**. Siempre para preparar la **Biomineralización** se pone primero el agua, a continuación el **nutrimento normal**, el **Actical** y por último la ***Bacteria liofilizada***.

BIOMINERALIZACIÓN

H ₂ O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical	Tiempo
1000 ml	1 gr	40 gr	10 ml	24 H - 48 H
100 ml	0,1 gr	4 gr	1 ml	24 H - 48 H

Se utilizaron **100 ml** por que no se necesitaba más cantidad. Así mismo, se aplicó

Biomineralización en el ensayo n ° 2 y en el ensayo n ° 3.

Tabla n ° 9: Cantidades de producto para aplicar **Biomineralización** durante 5 días, cada 24 horas.

	H ₂ O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical
1^{er} día	100 ml	0,1 gr	4 gr	1 ml
2^o día	100 ml		4 gr	1 ml
3^{er} día	100 ml		4 gr	1 ml
4^o día	100 ml		4gr	1 ml
5^o día	100 ml		4 gr	1 ml

* El **Nutrical (normal)**, Se puede hacer el día anterior y guardarlo en la nevera.

1. Pasados cinco días, se introdujeron los moldes en la incubadora durante 8 días para su secado. Posteriormente se extrajeron de la incubadora.

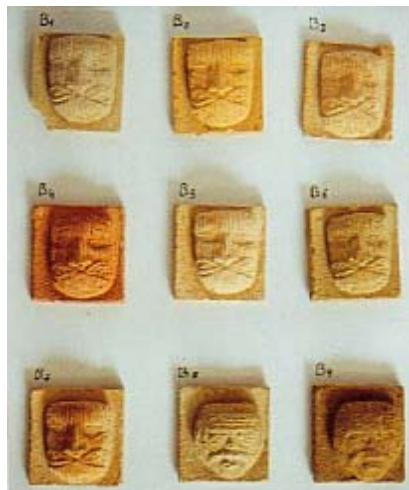


Fig. 13. Efigies indígenas con distinto semblante, ya extraídas de la incubadora y secas.

3.3. Resultados y comentarios de los ensayos n ° 1 y n ° 2

3.1. Ensayo n ° 1

Cuando se realizó el mortero con Zeolita, la reproducción resultaba sólida y con la **Biomineralización** tenía buen aspecto. Pero el principal problema era el color por que se diferenciaba mucho del polvo de piedra original. Debido a esto, se decidió no añadir Zeolita y dejar de utilizarla en morteros y reproducciones.

Pero se pudo observar que todos estos morteros eran óptimos para aplicar con inyección en grietas, orificios, huecos y cavidades. Lo primero que hay que hacer, es pulverizar la piedra, grieta, cavidad, etc., con **Nutrical n ° 6** y a continuación inyectar el mortero. Posteriormente, hay que continuar aplicando **Nutrical n ° 6** durante 4 días con un pincel suavemente por que se puede manejar mucho mejor. Se puede aplicar **Nutrical n ° 6** dos o tres veces al día. Esto depende de la porosidad de la piedra. La **revivificación de la bacteria** es mejor realizarla 48 horas antes porque la bacteria se incrementa en varios mililitros o gramos.

Revivificación de la bacteria: 24 H → Empieza 10^8 bac / ml - 10^9 bac / ml

48 H → 10^{10} bac / ml

Después se puede aplicar **Biomineralización** como protección de la piedra o para crear pátinas como una técnica óptica.

Aún así, las diferentes reproducciones presentaban un aspecto pulverulento, no sé puede afirmar que éste sea el mejor método.

3.2. Ensayo n ° 2

En este ensayo el color cambia levemente. El algodón incrementa la dureza pero se debe poner más cantidad de *Bacteria liofilizada* y **Nutrical n ° 6**.

Debido a lo expuesto anteriormente, se decidió no hacer uso de Zeolita tanto en morteros como en reproducciones por que intensifica mucho el color del polvo de piedra.

El algodón resultó ser lo mejor para aumentar la dureza del polvo de piedra. Aun así, el molde continúa siendo un problema ya que no tiene porosidad y, por tanto, la bacteria no puede absorber bien el **Nutrical n ° 6** y como resultado, aparecen pequeñas oquedades.

Como consecuencia de lo anteriormente expuesto, se debe tratar de realizar estos ensayos con otra clase de moldes o intentar elaborar en la superficie de estos, una serie de minúsculos agujeros para crear porosidad, bien mediante láser o agujas para realizar una malla de orificios. **Este es el mayor problema con el que nos encontramos.**

3.4. Ensayo n ° 3

En el **Ensayo n ° 3** se utilizó el molde de una *Menelita*⁴⁰ grande (Albacete).

⁴⁰ **Menelita** n. f. **Miner.** Se trata de una variedad de ópalo, tierra de sílice que forma masas noduliformes opalínicas, en capas de creta, y que en la edad de piedra fue el principal material para tallar instrumentos. Larousse – Bordas, S. A., Temáticos Larousse, S. A., Editorial Larousse – Planeta. “*Diccionario Larousse 2000*”, tomo 10, p. 3762 Barcelona 1998, 16 vols., y 2 actualizados.



Fig. 14. 'Menelita' original y molde de silicona con original en su interior.

Únicamente se tenía una clase de polvo de piedra:

1. Piedra de Tuffeau⁴¹ con una granulometría de **45 µm**.

En primer lugar se debía decidir que cantidad de mortero se iba a utilizar.

Tabla n ° 10: Cantidades de *Bacteria revivificada* para realizar el **Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.)**.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6
50 gr de mortero	2 gr	10,5 ml
25 gr de mortero	1 gr	5,25 ml

Se decidió preparar **50 gr de Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.)** para todo el molde. Se intentaría colocar dos capas en cada una de las partes del molde.

Se debían preparar dos frascos de mortero para aplicar en el molde. Uno de los recipientes estaría 24 horas en la incubadora a 24° C para una de las capas y el segundo recipiente también 48 horas en la incubadora, a 24° C para la segunda capa.

⁴¹ **Tuffeau** n. f. **Miner.** La piedra **Tuffeau** es una roca sedimentaria marina, es decir, se originó en los depósitos del fondo marino, hace 90 millones d años, recubre la totalidad de la actual base parisina. Se trata de material de barro calcáreo acumulado hace millones de años. Es la mezcla de una serie de organismos vivos en el medio marino (moluscos, foramníferos...) y otro tipo de fragmentos de rocas del continente, arrastrados por el mar que en su totalidad, son esencialmente micas. RAUTEREAU, M. "Tendre comme la pierre Monuments pour la restauration et l'entretien". [http://www.culture/conservation/fr/preventi/p., 2 de 8 Tuffeau/chapitre_02.htm](http://www.culture/conservation/fr/preventi/p.,2de8Tuffeau/chapitre_02.htm). Párr.1, "La formation de la roche", p., 2 de 8.

Tabla n ° 11: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para realizar el **Mortero nutritivo n ° 6** (N. M. 6.).

50 gr de mortero	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6	Tiempo
1 ^{er} frasco	2 gr	10,5 ml	24 H
2 ^o frasco	2 gr	10,5 ml	48 H

3. 4. 1. Realización del mortero

Lo primero que se hizo fue hacer el mortero para la primera capa. Los 50 gramos de mortero eran para las dos caras del molde.

Tabla n ° 12: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 6, polvo de piedra (*Tuffeau*) y producto adicional (gasas) para realizar el mortero. Se realizarán **50 gr de Mortero nutritivo n ° 6** (N. M. 6) para la 1^a capa.

Bacteria revivificada (24H)	Nutrical n ° 6	Polvo de piedra		Producto adicional	Peso del mortero
Gr	N. M. 6. ml	Tipo	Cantidad	Gasas	Gr
12,5 gr	12,5 ml = *8 ml	Tuffeau - 45 µm	25 gr	Piezas cuadradas	45,5 gr

* Sólo se necesitaron poner 8 ml de **Mortero nutritivo n ° 6** (N. M. 6.).

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes. (Se hizo lo mismo para las dos caras del molde.)
2. A continuación se añadió el polvo de piedra (*Tuffeau*), el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 6**. Su consistencia debe ser como una crema. Si quedaba muy líquida, se podía añadir 1 gr más de polvo de piedra.

3. El mortero se asentó en las dos caras del molde. Pero el molde, no admitía más cantidad de **Nutrical n ° 6** (en un mortero normal cuando se ha aplicado en la piedra, se puede seguir aplicando **Nutrical n ° 6**, dos o tres veces al día.)
4. Encima del mortero, se dispusieron pequeñas piezas cuadradas de gasa y una vez terminada esta fase, se pudo aplicar **Nutrical n ° 6** dos o tres veces al día.
5. Por último, se introdujeron las dos caras del molde en la incubadora a una temperatura de 25⁰ C durante 24 horas.

2. 2. Pasadas las 24 horas, se extrajeron los moldes de la incubadora. Se prepararon los otros 50 g de mortero que había estado en la incubadora durante 48 horas, para asentar la segunda capa en las dos superficies del molde.

Tabla n ° 13: Cantidades de *Bacteria revivificada*, **Nutrical n ° 6**, polvo de piedra (*Tuffeau*) y producto adicional (gasas) para realizar el mortero. Se realizarían **50 gr de Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6)**, para la 2^a capa.

Bacteria revivificada (48 H)	Nutrical n ° 6	Polvo de piedra		Producto adicional	Peso del mortero
Gr	ml	Tipo	Cantidad	Gasas	Gr
12,5 gr	12,5 ml = *10,5 ml	Tuffeau – 45µm	25 gr	Piezas cuadradas	45,5 gr

* Sólo se necesitaron poner 10'5 ml de N. M. 6.

1. Previamente, antes de realizar la segunda capa de mortero, se aplicó **Nutrical n ° 6** en las dos superficies del molde, ya que de ésta forma el **Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6)** se adhiere mucho mejor. Se realizaría lo mismo si se tratase de una piedra que se encuentra en el exterior.

2. Se nutrió la primera capa como se ha dicho anteriormente y a continuación se procedió a la mezcla de todos los productos para aplicar la segunda capa.
3. Se extrajo la ***Bacteria revivificada*** de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes. Se hace lo mismo para las dos caras del molde.
4. A continuación se añadió el polvo de piedra (***Tuffeau***), el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 6** . Debe ser como una crema. Si quedaba muy líquida, se podía añadir 1 gr más de polvo de piedra. En este caso, se añadieron **10,5 ml** de **Nutrical n ° 6**. Se tuvo que añadir más cantidad de **Nutrical n ° 6** debido a que la bacteria había permanecido en la incubadora durante 48 horas y se había incrementado en 10^{10} bac /ml⁴².
5. El mortero se asentó en las dos caras del molde. Pero el molde, no admitía más cantidad de **Nutrical n ° 6** (como ya se ha comentado, en un mortero normal cuando se ha aplicado en la piedra, se puede seguir aplicando **Nutrical n ° 6**, dos o tres veces al día.).
6. Encima del mortero, se dispusieron pequeñas piezas cuadradas de gasa y una vez terminada esta fase, se pudo asentar otra capa muy fina de mortero sobre las gasas.
7. Por último, se introdujeron las dos caras del molde en la incubadora a una temperatura de 25⁰ C durante cuatro días.
8. Dos días antes de extraer los moldes de la incubadora, se preparó la **revivificación de la bacteria** para poder aplicar la **Bio mineralización** sobre estos. Es mejor preparar la revivificación de la bacteria 48 horas antes de su aplicación.

⁴² **bac /ml** :Bacteria por mililitro.

9. Pasados los cuatro días, se extrajeron los moldes de la incubadora pero las reproducciones tenían algunas oquedades pequeñas por lo que se decidió hacer un nuevo mortero para aplicarlo 24 horas después por la mañana y por la tarde aplicar la **Biomineralización**.

Tabla n ° 14: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para **revivificar la bacteria** y poder realizar el **Mortero nutritivo n ° 6** y reintegrar los pequeños huecos de la reproducción 24 horas más tarde. Sólo se debía realizar la mitad del mortero (* **12,5 gr de Mortero nutritivo n ° 6, N. M. 6.**).

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6
25 gr de mortero	1 gr	5,25 ml
* 12,5 gr de mortero	0,5 gr	2,6 ml

3. 4. 2. Realización de la Biomineralización.

Tabla n ° 15: Componentes y cantidades para preparar la **Biomineralización** y poder aplicarla 24 horas después tras haber rellenado las oquedades de la reproducción. Siempre para preparar la **Biomineralización** se pone primero el **agua**, a continuación el **nutrimento normal**, el **Actical** y por último la *Bacteria liofilizada*.

BIOMINERALIZACIÓN

H₂O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical	Tiempo
1000 ml	1 gr	40 gr	10 ml	24 H - 48 H
100 ml	0,1 gr	4 gr	1 ml	24 H - 48 H

* Se utilizan **100 ml** por que no se necesita más cantidad. Así mismo sé aplicó

Biomíneralización en el ensayo 1 y ensayo 2.

Pasadas las 24 horas se preparó el mortero para aplicarlo en los huecos de la reproducción.

Tabla n ° 16: : Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 6, polvo de piedra (*Tuffeau*) para aplicar en los agujeros.

	Bacteria revivificada	Nutrical n ° 6.	Polvo de piedra <i>Tuffeau</i> – 45 µm	Peso del mortero
12,5 gr de mortero	3,1 gr	3,1 ml = 2,5 ml	6,25 gr	11,85 gr

1. Se extrajo la ***Bacteria revivificada*** de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes. Se realiza lo mismo para las dos caras del molde.
2. A continuación se añadió **el polvo de piedra (*Tuffeau*)**, el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 6**. Debe quedar como una crema. Si quedaba muy líquida, se podía añadir 1 gr más de polvo de piedra. En este caso, se añadieron **2'5 ml de Nutrical n ° 6**.
3. Antes de aplicar el mortero en los huecos de la reproducción se aplicó **nutrimento en el mortero**. En un mortero normal se puede seguir aplicando **Nutrical n ° 6**, dos o tres veces al día. Pero en este caso se va aplicar **Biomíneralización** posteriormente.
4. Con mucho cuidado, se aplicó el mortero poco a poco con una espátula para reintegrar los huecos y las esquinas. A continuación, se aplicó **nutrimento** poco a poco con un pincel.

5. Pasadas unas horas, se preparó el producto con la bacteria, para aplicar la **Biomineralización** sobre el mortero. Se mezclaron todos los productos y se procedió a su pulverización sobre la reproducción (sobre el mortero.). Posteriormente se aplicó el **nutrimento** durante cuatro días más.

Tabla n ° 17: Cantidades de producto para aplicar **Biomineralización** durante 5 días cada 24 horas.

	H₂ O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical
1^{er} día	100 ml	0,1 gr	4 gr	1 ml
2^o día	100 ml		4 gr	1 ml
3^{er} día	100 ml		4 gr	1 ml
4^o día	100 ml		4 gr	1 ml
5^o día	100 ml		4 gr	1 ml

* El **Nutrical (normal)**, Se puede hacer el día anterior y guardarlo en la nevera.

1. Pasados cinco días, se introdujeron los moldes en la incubadora durante 6 días, a una temperatura de 25° C para su secado.
2. El cuarto día antes de extraer la reproducción de la incubadora, se procedió a la **revivificación de la bacteria** para realizar el **Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.)** y por último poder pegar las dos piezas de la reproducción.

Tabla n ° 18: Cantidades de **Bacteria revivificada** para hacer el **Mortero nutritivo n ° 6** para efectuar la adhesión de las dos piezas. Sólo hubo que hacer la mitad del mortero por que con esa cantidad era suficiente: **12,5 gr de Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.)**.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6
25 gr de mortero	1 gr	5,25 ml
12,5 gr de mortero	0,5 gr	2,6 ml

3. El quinto día se extrajo la reproducción de la incubadora para proceder a su adhesión.



Fig. 15. Reproducción de las dos caras de la '*Menelita*' ya en proceso de **Biomineralización**.

Tabla n ° 19: Cantidades de *Bacteria revivificada* y polvo de piedra (*Tuffeau*) para preparar el **Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.)** para aplicarlo en las dos superficies de la reproducción y proceder a la adhesión de las dos superficies.

	Bacteria revivificada	Nutrical n °6.	Polvo de piedra (<i>Tuffeau</i>)	Peso total del mortero
12,5 gr de mortero	3,1 gr	3,1 ml = 2,5 ml	6,25 gr	11,85 gr

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes. Se realiza lo mismo para las dos caras del molde.
2. A continuación se añadió el **polvo de piedra (*Tuffeau*)**, el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n °6**. Como se ha dicho, debe ser como una crema. Si quedaba muy líquida, se

podía añadir 1 gr más de polvo de piedra. En este caso, se añadieron **2'5 ml** de **Nutrical n ° 6**.

3. Antes de aplicar el mortero en las dos superficies de la reproducción, se recortaron todos los bordes de las gasas que sobresalían y se aplicó **nutrimento** en las dos superficies.
4. Con mucho cuidado, se aplicó el mortero poco a poco con una espátula para esparcir bien éste en la superficie y en las esquinas.
5. A continuación, se cogieron las dos piezas y se procedió a su unión con extremo cuidado. Al final se repasaron los bordes y se aplicó **nutrimento** con un pincel todo alrededor de la reproducción. Hubo que dar mucho **nutrimento** para pegar bien las superficies y para que la bacteria estuviese bien nutrida.
6. Por último se reemplazó la reproducción en la incubadora a 25° C durante tres días, para su secado.
7. Al tercer día se extrajo la pieza de la incubadora y se pudo observar que tenía muy buen aspecto y que había quedado perfectamente adherida mediante el '*Mortero biológico*'.

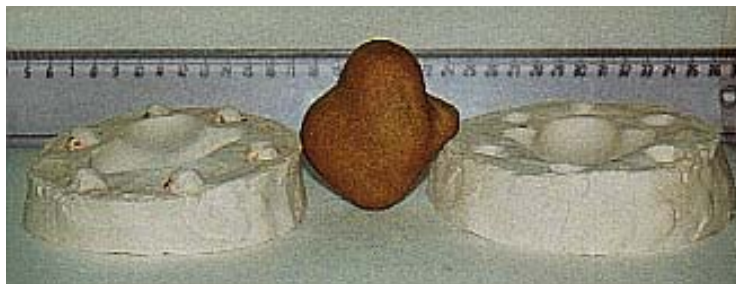


Fig.16. Reproducción final de la '*Menelita*' grande realizada con *Bacteria liofilizada*.



Fig. 17. Detalle desde distintos ángulos de la '*Menelita*' grande.

3.4. 3. Resultados y comentarios

1. Se ha podido comprobar que se trata de un buen método para realizar el mortero biológico y realizar una buena reproducción. Además, se trata de un método fácil de realizar.

2. Aun así, se continúa teniendo problemas con el molde ya que siguen apareciendo pequeños orificios debido a que éste no tiene ninguna porosidad por lo que el oxígeno no llega al interior.

3. Por último hay que mejorar la técnica de colocación de las gasas, colocando estas muy pegadas a los bordes, ya que sino posteriormente es muy difícil recortarlas y así mismo adherirlas.

3. 4. 4. Observación mediante MEB (Microscopía Electrónica de Barrido)

Las micrografías se realizaron dos meses después de haber finalizado el ensayo. Esto se debe a que la **carbonato génesis** necesita un tiempo de dos meses más o menos para su completa maduración. Estas micrografías se realizaron en el Centro de Microscopía de la universidad Complutense de Madrid.

PLANCHA 1

Foto 1

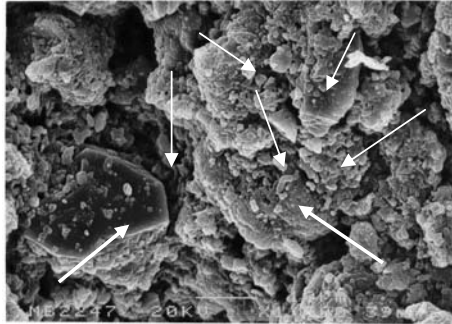


Foto 2

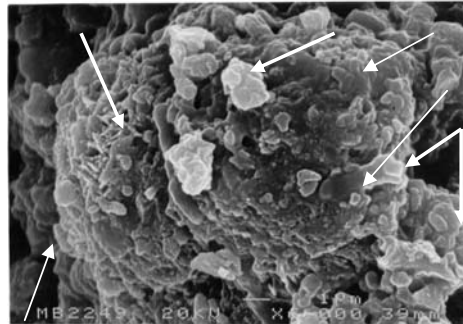


Foto 3

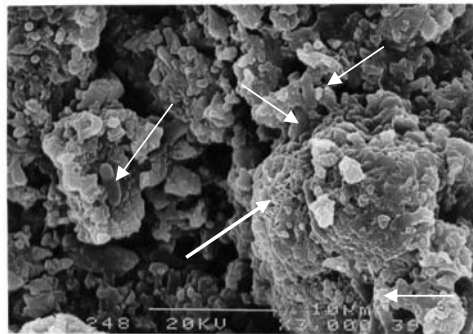


Foto 1. Las flechas finas nos muestran la presencia de bacteria (*Bacillus Cereus*). Las flechas gruesas nos reflejan partículas de polvo de piedra (*Tuffeau*). Se pueden observar bastantes huecos, lo que significa que no se ha producido una cohesión completa de las partículas pero por el contrario el *Bacillus Cereus* ha realizado una buena colonización.

Foto 2. La flecha gruesa superior izquierda, nos muestra **cristobalita** que se está cubriendo de Ca CO_3 (carbonato cálcico). Las otras flechas gruesas son Ca CO_3 (carbonato cálcico) excretado por el *Bacillus Cereus* que va quedando recubierta de éste.

Foto 3. La flecha gruesa nos muestra como la **cristobalita** va desapareciendo por la excreción de Ca CO_3 (carbonato cálcico) por el *Bacillus Cereus*. La flecha fina nos muestra el *Bacillus Cereus*.

3.5. Ensayo n ° 4

En este ensayo se utilizó la escultura de un **buda**. El molde tiene una gran profundidad y presenta muchos entrantes y salientes. En este ensayo se va a utilizar una sola clase de **polvo de piedra (Tuffeau)**, se trata de una piedra muy parecida a la de **Novelda (Alicante.)** Pero en este caso, se utilizaron dos clases diferentes de granulometría (45 µm y 125 µm) realizado este medida mediante la curva de 'Fuller'.



Fig. 18. 'Buda' original. Cara A y cara B.

Fig. 19. Molde de figura de 'buda' realizado en Silastic RTV – 3481.

En primer lugar hubo que calcular que cantidad de mortero se iba a utilizar, ya que se trataba de un molde muy grande. En este caso se utilizaron gasas y algodón para incrementar la dureza del molde. En primera instancia, se decidió colocar dos capas de mortero, **100 gr de Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6) para cada capa, por lo que el total era de 200 gr de Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.)**. Pero se realizaría primero

una capa de **50 gr** en cada molde y **24 horas después** se aplicaría una segunda capa de otros **50 gr** sobre la anterior.

Se prepararon cuatro frascos de mortero para aplicar en el molde. Dos de los frascos estarían 24 horas en la incubadora a 24° C para cada una de las capas y los otros dos frascos 48 horas también en esta a 24° C para la segunda capa.

3. 5. 1. Realización del mortero

Tabla n ° 20: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para hacer el **Mortero nutritivo n ° 6** (N. M. 6.) para el molde del buda. Son 200 gr lo que hay que preparar.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6	Tiempo
100gr de mortero Cara A y Cara B	6 gr	32 ml	24 H
100gr de mortero Cara A y Cara B	6 gr	32 ml	48 H

Tabla n ° 21: Pero se realizó la **revivificación de la bacteria** en dos frascos por que posteriormente es más fácil poner la cantidad exacta en cada molde. La cantidad de *Bacteria liofilizada* para hacer el **Mortero nutritivo n ° 6** (N. M. 6.) es de **50 gr** de mortero para cada cara.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6
	1ª Capa (24 H)	1ª Capa (24 H)
50 gr de mortero	3 gr	16 ml
50 gr de mortero	3 gr	16 ml
Igual proporción →	2ª Capa (48 H)	2ª Capa (48 H)
50 gr de mortero	3 gr	16 ml
50 gr de mortero	3 gr	16 ml

1. Se colocaron los cuatro frascos en la incubadora.

2. Se limpió y secó el molde para que no tuviera posibles restos de cera u otros productos anteriormente utilizados.

Tabla n ° 22: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 6, polvo de piedra (*Tuffeau*) y producto adicional (algodón) para hacer 100 gr de Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6) para la 1ª capa, pero se realizaron 2 frascos de 50 g de mortero por que como se ha dicho anteriormente, es más fácil de manejar.

	Bacteria revivificada (24H)	Nutrical n ° 6	Polvo de piedra (<i>Tuffeau</i>)	Producto adicional Algodón
100 gr de mortero	38 gr	25 ml	40 gr → 2,61 gr de 45 µm → 37,38 gr de 125 µm	0,500 gr
50 gr de mortero	19 gr	12,5 ml = 2 ml	20 gr → 1,61 gr de 45 µm → 18,69 gr de 125 µm	0,250 gr

Tabla n ° 23: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 6, polvo de piedra (*Tuffeau*) y producto adicional (algodón) para hacer la 1ª capa, pero se hicieron 2 frascos 50 g de mortero por que como se ha dicho anteriormente es más fácil de manejar.

	Bacteria revivificada (24H)	Nutrical n ° 6	Polvo de piedra (<i>Tuffeau</i>)	Producto adicional Algodón
50 gr de mortero CARA A	19 gr	*12,5 ml = 2ml	20 gr → 1,61 gr de 45 µm → 18,69 gr de 125 µm	0,250 gr
50 gr de mortero CARA B	19 gr	*12,5 ml = 2 ml	20 gr → 1,61 gr de 45 µm → 18,69 gr de 125 µm	0,250 gr

*Sólo se necesitaron 2 ml de Nutrical n ° 6.

CARA A

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes. Se realiza lo mismo para las dos caras del molde.

2. A continuación se añadió el **polvo de piedra (Tuffeau)**, **algodón (cortado en piezas muy pequeñas)**. Esto es muy importante y a continuación el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 6**. Debe ser como una crema. Si queda muy líquida, se podrá añadir 2gr más de polvo de piedra. Por cada 25 gr de mortero, se podrá añadir 1 gr de polvo de piedra y por cada 50 gr de mortero se podrá añadir 2 gr de polvo de piedra. **En este caso se añadieron 2 gr más de polvo de piedra de Tuffeau: 0,131 gr de 45 μm y 1,869 gr de 125 μm .**
3. Se asentó el mortero en la **cara B** del molde. Pero parecía que necesitaba más cantidad de mortero por que la capa quedaba muy fina.
4. Al final se tuvo que colocar sobre la superficie pequeñas **piezas de gasas** y una vez terminado este proceso, añadir una pequeña cantidad de **Nutrical n ° 6**.



Fig. 20. Asentamiento del **Mortero nutritivo n ° 6** en la cara B del molde del “*buda*”.

5. Se realizó el mismo proceso con la **cara B** y finalmente se introdujeron los moldes en la incubadora a 25° C.
6. A las **24 horas** se preparó el mortero para aplicar la **segunda capa** en el molde. Se realizó el mismo proceso que con la **primera capa**.

Tabla n ° 24: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 6, polvo de piedra (*Tuffeau*) y producto adicional (algodón) para hacer la 2ª capa. Pero lo mismo que en la capa anterior, se hicieron 2 frascos de **50 gr de mortero** por que es mucho más fácil de manejar.

	Bacteria revivificada (48 H)	Nutrical n ° 6	Polvo de piedra (<i>Tuffeau</i>)	Producto adicional Algodón
50 gr de mortero CARA A	19 gr	*12,5 ml = 2ml	20 gr → 1,61 gr de 45 µm → 18,69 gr de 125 µm	0,250 gr
50 gr de mortero CARA B	19 gr	*12,5 ml = 2 ml	20 gr → 1,61 gr de 45 µm → 18,69 gr de 125 µm	0,250 gr

*Sólo se necesitaron **2 ml** de **Nutrical n ° 6**.

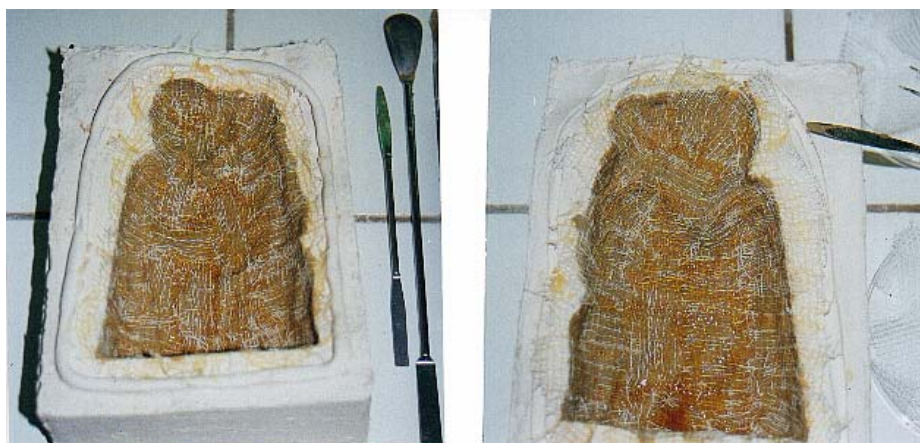
En este caso se necesitó añadir 2 g de polvo de piedra de *Tuffeau*: **0,131 gr de 45 µm** y **1,869 gr de 125 µm**.

CARA A

Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes. Se realizó lo mismo en las dos caras del molde.

1. A continuación, se añadió **el polvo de piedra (*Tuffeau*), el algodón (cortado en piezas muy pequeñas, esto es muy importante)** y a continuación el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 6**. La consistencia debe ser como una crema. Si queda muy líquida, se podrá añadir **2gr** más de polvo de piedra. Por cada 25 gr de mortero se podrá añadir 1 gr de polvo de piedra y por cada 50 gr de mortero se añadirían 2 gr de polvo de piedra. **En este caso se añadieron 2 gr más de polvo de piedra de *Tuffeau*: 0,131 gr de 45 µm y 1,869 gr de 125 µm.**

2. Antes de asentar la segunda capa de mortero hubo que nutrir la capa anterior con **Nutrical n ° 6**. A continuación se asentó el mortero en la **cara A** del molde. Pero parecía que necesitaba más cantidad de mortero por que la capa quedaba muy fina.
3. Al final se tuvo que colocar sobre la superficie pequeñas piezas de gasas y una vez terminado este proceso, añadir una pequeña cantidad de **Nutrical n ° 6**.



CARA A

CARA B

Fig. 21. Asentamiento del **Mortero nutritivo n ° 6** y pequeños fragmentos de gasa, sobre el molde del “buda”.

4. Se realizó el mismo proceso con la **cara B** y finalmente se introdujeron los moldes en la incubadora a 25° C.
5. Se decidió aplicar una **tercera capa** por que quedaba muy fina con **dos capas**. Para incrementar el grosor de la **tercera capa**, se realizó más cantidad de mortero. En este caso se procedió a elaborar **150 gr de mortero (75 gr de mortero para la cara A y 75 gr para la cara B)**.

Tabla n ° 25: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para hacer **Mortero nutritivo n ° 6** (N. M. 6.) y realizar el molde grande. Se hicieron **150 gr**.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6	Tiempo
100gr de mortero	6 gr	32 ml	24 H
75 gr de mortero	4,5 gr	24 ml	24 H

1. Se preparó el mortero para aplicar la **segunda capa** en el molde. Se hizo de la misma forma que las dos veces anteriores.

Tabla n ° 26: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 6, polvo de piedra (Tuffeau) y producto adicional (algodón) para hacer 150 gr de Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.) para la 3ª capa. Ahora bien, se hicieron 2 frascos de 75 gr de mortero por que es mucho más fácil de manejar.

	Bacteria revivificada (24H)	Nutrical n ° 6	Polvo de piedra (Tuffeau)	Producto adicional Algodón
150 gr de mortero	57 gr	37,5 ml	66 gr → 2,88 gr of 45 µm → 37,38 gr of 125µm	0,500 gr
75 gr de mortero	28,5 gr	*18,75 ml =1,5ml	33 gr → 1,44 gr of 45 µm → 41,11 gr of 125 µm	0,375 gr

* Únicamente se utilizó 1'5 ml de Nutrical 6.

CARA A

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes. Se realizó lo mismo para las dos caras del molde.
2. A continuación se añadió el **polvo de piedra (Tuffeau)**, el **algodón (cortado en piezas muy pequeñas, esto es muy importante)** y a continuación el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que como ya se ha dicho, no todo el polvo de piedra necesita

la misma cantidad de **Nutrical n ° 6**. Ya sabemos que la consistencia debe ser como una crema. Si queda muy líquida, se podrá añadir 3 gr más de polvo de piedra. Es decir, por cada 50 gr de mortero se podrán añadir 2 gr de polvo de piedra y por cada 75 g de mortero se añadirán 3 gr de polvo de piedra.

3. Antes de asentar la segunda capa de mortero hubo que nutrir la capa anterior con **Nutrical n ° 6**. A continuación se asentó el mortero en la **cara A** del molde. Pero parecía que necesitaba más cantidad de mortero por que la capa quedaba muy fina.
4. Al final se tuvo que colocar sobre la superficie pequeñas piezas de gasas y una vez terminado este proceso, se añadió una capa muy fina de mortero y pequeña cantidad de **Nutrical n ° 6**.
5. Se realizó el mismo proceso con la **cara B** y finalmente se introdujeron los moldes en la incubadora a 25° C.
6. 48 horas antes, se preparó el producto con la “*Bacteria liofilizada*”, para aplicar la **Biomineralización** sobre el mortero. Se mezclaron todos los productos y se procedió a su pulverización sobre la reproducción (sobre el mortero.). Posteriormente se aplicó el **nutrimento** durante cuatro días más.

3. 5. 2. Realización de la Biomineralización

Tabla n ° 27: Componentes y cantidades para preparar la **Biomineralización** y poder aplicarla 48 horas después. Siempre para preparar la **Biomineralización** se pone primero el **agua**, a continuación el **nutrimento normal**, el **Actical** y por último la **bacteria**.

BIOMINERALIZACIÓN

H ₂ O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical
100 ml	0,1 gr	4 gr	1 ml
50 ml	0,05 gr	2 gr	0,5 ml

1. Tres días después se extrajeron los moldes de la incubadora. El mortero no había terminado de secarse y presentaba un aspecto nefasto, debido a que las capas eran demasiado finas y quedaban al descubierto el algodón y las gasas.



Fig. 22. Detalle del craquelamiento del mortero, aplicado sobre el molde del '*buda*'.

2. En este experimento, se propone repetir todo el ensayo pero poniendo **gel de sílice**⁴³ y posiblemente gasas. A su vez, habrá que aumentar la cantidad de mortero ya que como se ha observado, el otro era muy poca cantidad para este molde.

⁴³ **Gel de sílice. Dióxido de silicio(sílice).** El dióxido de silicio, Si O₂, se encuentra en la Naturaleza en formas muy diversas de cuarzo, como un depósito cristalino. El dióxido de siliceo, es el anhídrido del ácido ortosilícico, Si O₄ H₄ (deshidratado). En este caso, se utiliza como agente tixotrópico, es decir, como agente espesante. Este gel presenta la propiedad de licuarse, esto es, de transformarse en sol, cuando se agitan vivamente o se someten a tensiones mecánicas muy fuertes. Babor, Joseph A., Ibarz, José. Editorial Marín, S. A. "*Química general moderna*", pp. 527, 672-673. Barcelona 1998, 1 vol.



Fig. 23. Detalles de la fragmentación del '*buda*' tras su extracción del molde.

3. Si el mortero hubiese estado en buenas condiciones habría que aplicar **Biomíneralización** durante cinco días y posteriormente unir las dos superficies con "*Mortero biológico*" e introducirlas en la incubadora hasta su completo secado.

Tabla n ° 28: Cantidades de producto para aplicar **Biomíneralización** durante 5 días cada 24 horas.

	H₂O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical
1^{er} día	50 ml	0,05 gr	2 gr	0,5 ml
2^o día	50 ml		2 gr	0,5 ml
3^{er} día	50 ml		2 gr	0,5 ml
4^o día	50 ml		2 gr	0,5 ml
5^o día	50 ml		2 gr	0,5 ml

* El **Nutrical (normal)**, Se puede hacer el día anterior y guardarlo en la nevera.

3. 5. 3. Resultados y comentarios

En este caso el ensayo ha sido un nefasto por diversos motivos:

- Lo primero que se realizará, será incrementar el mortero del molde del **buda**.

En el molde del **buda** se pueden ver con toda claridad los detalles de la figura.

Esto es muy importante, ya que significa que la bacteria ha desarrollado perfectamente en el molde. Pero como se ha dicho anteriormente, se debe incrementar la cantidad de mortero para que las capas sean más gruesas.

- Se ha podido comprobar que es un buen método para realizar los moldes. Su realización es muy sencilla.
- Por último, se incide en el hecho de que se siguen teniendo problemas con el molde, ya que no tiene porosidad y siguen apareciendo pequeños huecos en la reproducción.
- Otro de los puntos a tener en cuenta y de lo que se ha hablado anteriormente, es que a la hora de colocar las gasas hay que tener sumo cuidado de situarlas al borde del mismo mortero, debido a que posteriormente es muy difícil recortar los trozos que sobresalen y su unión es más complicada de realizar.

3.6. Ensayo n ° 5

En este ensayo se utilizó el molde de una moneda como en el primer ensayo pero en este caso sólo se utilizó el molde de una moneda. Para la realización de este ensayo sólo se tenía polvo de piedra de *'Tuffeau'* (piedra francesa) pero únicamente se uso una clase de granulometría (45 µm).

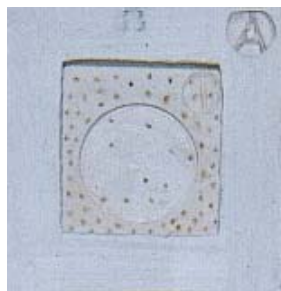


Fig. 24. Molde de moneda con orificios.

En primer lugar había que decidir que cantidad de mortero se iba a utilizar. Además, se van a utilizar gasas y algodón para incrementar la dureza. Pero el punto más importante, es que se va a tratar de crear porosidad en el molde por que resulta necesario para la bacteria. Se realizaron una gran cantidad de pequeños agujeros en el molde de la moneda con una aguja hipodérmica.

Se decidió colocar en el molde una sola capa. Por lo que sería suficiente hacer una cantidad de **25 gr** de **mortero** para una capa.

3. 6. 1. Realización del mortero

Tabla n ° 29: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para hacer el **Mortero nutritivo n ° 6** (N. M. 6.) para el molde de la moneda. Se hicieron 25 gr.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6	Tiempo
25 gr de mortero	1,5 gr	8 ml	48 H

Tabla n ° 30: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 6, polvo de piedra (Tuffeau) y producto adicional para hacer 25 gr de Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.).

	Bacteria revivificada (48 H)	Nutrical n ° 6	Polvo de piedra (Tuffeau)	Producto adicional Algodón
25 gr de mortero	9,5 gr	2,25 ml	10 gr → de 45µm	0,250 gr

1. Se limpió y seco muy bien el molde para que no tuviese restos de ensayos anteriores.
2. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes.
3. A continuación se añadió el **polvo de piedra (Tuffeau)**, el **algodón (cortado en piezas muy pequeñas, (esto es muy importante))** y a continuación el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 6**. Se vuelve a reincidir en que debe tener la consistencia de una crema. Si queda muy líquida, se podrá añadir 1 gr más de polvo de piedra. Por cada 25 gr de mortero se podrá agregar 1 gr de polvo de piedra y por cada 50 gr de mortero serán 2 gr de polvo de piedra. Se asentó el mortero en el molde de la **moneda**. Se introdujo el molde en la incubadora durante tres días a 25° C.
7. 48 horas antes, se preparó el producto con la bacteria, para aplicar la **Biomíneralización** sobre el mortero.

3. 6. 2. Realización de la Biomineralización

Tabla n ° 31: Componentes y cantidades para preparar la **Biomineralización** y poder aplicarla 48 horas después. Siempre para preparar la **Biomineralización** se pone primero el **agua**, a continuación el **nutrimento normal**, el **Actical** y por último la **Bacteria liofilizada**.

BIOMINERALIZACIÓN

H₂O	Bacteria Liofilizada	Nutrical (normal)	Actical
100 ml	0,1 gr	4 gr	1 ml
50 ml	0,05 gr	2 gr	0,5 ml

1. Se extrajo el molde de la incubadora pero este no presentaba buen aspecto. Aparecían pequeños agujeros y no se podían ver bien los detalles de la moneda.

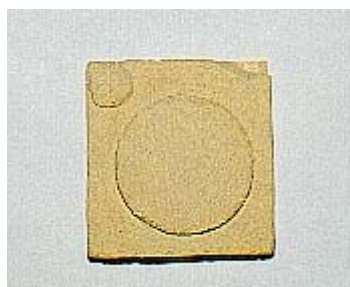


Fig. 25. Reproducción de **moneda** con orificios.

2. Se mezclaron todos los productos y se procedió a su pulverización sobre la reproducción (sobre el mortero.). Posteriormente se aplicó el **nutrimento** durante cuatro días más.

Tabla n ° 32: Cantidades de producto para aplicar la **Biomineralización** durante cinco días cada 24 horas.

	H₂ O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical
1^{er} día	50 ml	0,05 gr	2 gr	0,5 ml
2^o día	50 ml		2 gr	0,5 ml
3^{er} día	50 ml		2 gr	0,5 ml
4^o día	50 ml		2 gr	0,5 ml
5^o día	50 ml		2 gr	0,5 ml

* El **Nutrical (normal)**, Se puede hacer el día anterior y guardarlo en la nevera.

Una vez finalizada la **Biomineralización**, se introdujo el molde en la incubadora durante tres días a 25° C.

3. 6. 3. Resultados y comentarios

Este ensayo tampoco presenta un buen aspecto. El mortero aparece en buenas condiciones pero no se pueden observar los detalles de la moneda con toda claridad. Se debe seguir realizando otro tipo de ensayos ya que la porosidad sigue presentando problemas.

Por el contrario, la cohesión del polvo de piedra parece tener una mejor cohesión de las partículas del polvo de piedra.

3. 6. 4. Observación mediante MEB (Microscopía Electrónica de Barrido)

PLANCHA 2

Foto 1

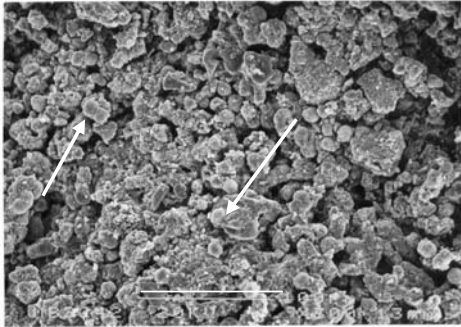


Foto 2

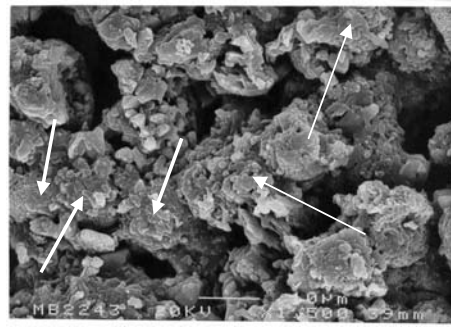


Foto 3

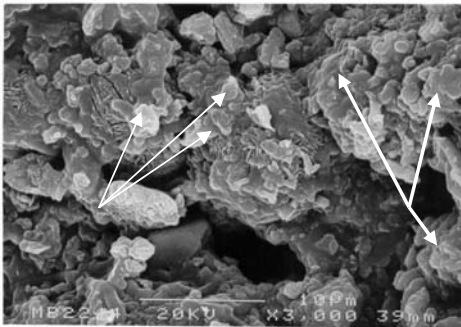


Foto 4

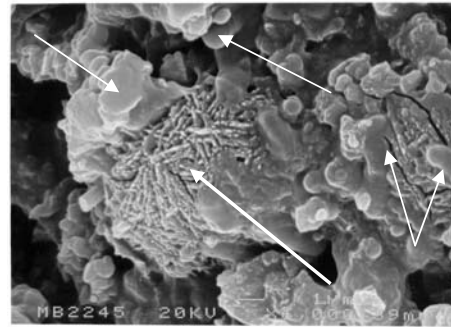


Foto 1. En ésta micrografía (100 μm) se puede observar una mejor cohesión de las partículas que en el ensayo n ° 3. Las partículas de **cristobalita** tienen una medida de 10'5 μm \varnothing y se puede observar como numerosas partículas de calcita.

Foto 2. Las flechas gruesas nos muestran partículas de **cristobalita** y como está siendo colonizada por la bacteria. No olvidemos que se trata de polvo de **Tuffeau** y como con el polvo de **Novelda** aparecen dichas partículas. Las flechas finas nos muestran la bacteria.

Foto 3. Las flechas finas marcan zonas donde el **Bacillus Cereus** aparece colonizando el polvo de piedra. Las flechas gruesas muestran como las partículas ya han recubierto las partículas de biocalcín.

Foto 4. La flecha gruesa muestra como la **crystalita** está siendo colonizada por el *Bacillus Céreus*. Las flechas finas muestran la bacteria y zonas donde ya ha excretado biocalcín.

3. 7. Ensayo n ° 6

En el **Ensayo n ° 6** se utilizó el molde de una '*Menelita*' pequeña (Albacete). Únicamente se tenía una clase de polvo de piedra (*Tuffeau*) con una granulometría de 45 µm.



Fig. 26. '*Menelita*' original pequeña y molde de silicona con original en su interior.

En primer lugar se debía decidir que cantidad de mortero se iba a utilizar. Se decidió que en este ensayo se incluiría un nuevo componente en el mortero, **gel de sílice**. Se trata de un tixotrópico que incrementa la dureza del mortero, a la vez que lo hace más moldeable. Estos son los puntos más importantes. Sólo se utilizó el **mortero normal** y el **gel de sílice**.

3. 7. 1. Realización del mortero

Tabla n ° 33: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para realizar el **Mortero nutritivo n °**

6 (N. M. 6.) Se hicieron **25 gr de mortero para una capa.**

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6	Tiempo
25 gr de mortero	1 gr	5,25 ml	48 H

Tabla n ° 34: Cantidades de *Bacteria revivificada*, **Nutrical n ° 6**, **polvo de piedra y producto adicional (gel de sílice)** para hacer **25 gr de mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.)**.

	Bacteria revivificada (48 H)	Nutrical n ° 6	Polvo de piedra (Tuffeau)	Producto adicional Gel de sílice
25 gr de mortero	6,25 gr	6,25 ml	12,5 gr → de 45 µm	*0,250 gr

* Se observó que se hacían muchas burbujas en el mortero. No se sabía por que se producían, por lo que la Dra. Castanier – Perthuisot decidió realizar un estudio exhaustivo sobre el gel de sílice.

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes.
2. A continuación se añadió el **polvo de piedra (Tuffeau)**, el **gel de sílice** y por último el **Nutrical n ° 6** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 6**. Deberá tener la textura como la de una crema. Si queda muy líquida, se podrá añadir 1 gr más de polvo de piedra. Por

cada 25 gr de mortero se añadirá 1 gr de polvo de piedra y por cada 50 gr de mortero serán 2 gr de polvo de piedra).

3. Se asentó el mortero en el molde de la '*Menelita*'. Se introdujo el molde en la incubadora durante tres días a 25° C. Se observó que el mortero continuaba haciendo burbujas y se añadió hasta un total de **15 ml** de **Nutrical n ° 6**.



Fig. 27. Mortero de *Bacteria revivificada*, aplicado en las dos caras del molde de la '*Menelita*' pequeña.

4. Al sobrar mucha cantidad de mortero, se asentó en uno de los moldes de las '*efigies indígenas*'. Continuaron produciéndose burbujas como en el molde de la '*Menelita*'. A éste mismo molde hubo que añadirle más cantidad de **Nutrical n ° 6**.
6. Este molde no se introdujo en la incubadora, sino que se dejó en las condiciones ambientales del laboratorio.



Fig. 28. Mortero de *Bacteria liofilizada*, aplicado en un molde de '*efigie indígena*'.

5. 48 horas antes de extraer el molde de la '*Menelita*' y la **efigie indígena** de la incubadora, se preparó la **revivificación de la bacteria**.

3. 7. 2. Realización de la Biomineralización

Tabla n ° 35: Componentes y cantidades de producto para realizar la **Biomineralización**. Siempre para proceder a la mezcla de los ingredientes de la **Biomineralización**, se pone primero el **agua**, a continuación el **Nutrical normal**, el **Actical** y por último la *Bacteria liofilizada*.

BIOMINERALIZACIÓN

H ₂ O	Bacteria liofilizada	Nutrical (normal)	Actical
100 ml	0,1 gr	4 gr	1 ml
50 ml	0,05 gr	2 gr	0,5 ml

1. Al extraer los moldes de la incubadora, se comprobó que estaban en perfectas condiciones. Las reproducciones se colocaron en una **caja de Petri**⁴⁴ con papel Joseph para proceder a su **Biomineralización**.

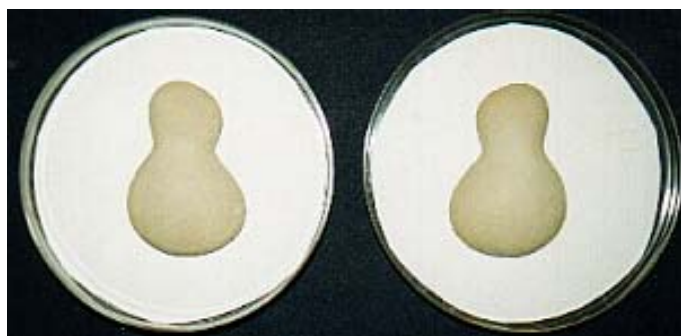


Fig. 29. Reproducciones de las dos caras de la '*Menelita*' pequeña.



Fig.30. Reproducción de *efigie indígena* preparada para aplicar la **Biomineralización**.

2. Se retocaron los bordes de la '*Menelita*' con una espátula, aplicando **Nutrical n ° 6** y restos del propio **polvo de piedra del mortero** que se había quedado en el molde.
3. A continuación se aplicó **Biomineralización** pulverizando sobre las reproducciones **Nutrical n ° 6** y posteriormente se siguió aplicando durante cuatro días más. Ahora bien, durante todo el tiempo se continuó colocando la reproducción en la incubadora a 25° C.



Fig. 31. Aplicación de la **Biomineralización** con bacteria liofilizada.

⁴⁴ **Caja de Petri.** Cajas donde se realiza el cultivo de todo tipo de microorganismos (bacterias y microbios). Se utiliza también para el recuento de éstos. Pelczar., Reid., Chan. Ediciones McGRA – HILL. "*Microbiología*", p.36., 4ª edición. México 1996.



Fig. 32. Frasco con *Bacteria revivificada* y peachímetro manual.

4. En este ensayo no se aplicó el **Nutrical normal** de la **Biomineralización**, sino que como se ha dicho, se aplicó durante todo el tiempo **Nutrical n ° 6**. Así mismo, se aplicó **Nutrical n ° 6** en el molde de la cara durante cinco días.
5. Se empezó a preparar la **revivificación de la bacteria** para adherir las dos superficies de la '*Menelita*'.

Tabla n ° 36: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para hacer el **Mortero nutritivo n ° 6** (N. M. 6.) para el molde de la '*Menelita*'. Se hicieron **12,5 gr** de **Mortero nutritivo n ° 6** (N. M. 6.).

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6	Tiempo
12,5 gr de mortero	0,5 gr	2,625 ml	48 H

1. Lo primero que debe quedar claro, es que gracias al estudio de proporciones que realizó mi codirectora de tesis⁴⁵, se sabía que había que añadir el **gel de sílice** al final de toda la mezcla. Y se deben mezclar los productos con sumo cuidado.

Tabla n ° 37: Cantidades de **gel de sílice** que se puede añadir al mortero.

⁴⁵ Dra. Mme Castanier - Perthuisot. Laboratorio de Biología y Microbiología. Universidad de Nantes. Francia.

	Bacteria revivificada	Nutrical 6	Polvo de piedra (<i>Tuffeau</i>)	Silica Gel
50 gr of mortar	12,5 gr	12,5 ml	25 gr of 45 μm	0,250 gr
25 gr of mortar	6,25 gr	6,25 ml	12,5 gr of 45 μm	0,125 gr
12,5 gr of mortar	3,15 gr	3,15 ml	6,25 gr of 45 μm	0,0625gr

2. En este ensayo, conociendo las proporciones reales de **gel de sílice** que se podían agregar a la mezcla, se realizó el mortero para la adhesión de la reproducción con dichas proporciones.

Tabla n ° 38: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 6, polvo de piedra (*Tuffeau*) y producto adicional (gel de sílice) para hacer 12,5 gr de Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.).

	Bacteria revivificada (48 H)	Nutrical n ° 6	Polvo de piedra (<i>Tuffeau</i>)	Producto adicional Gel de sílice
12,5 gr de mortero	3,15 gr	3,15 ml	6,3 gr→ de 45 μm	0,0625 gr

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes.
2. Primero se puso Nutrical n ° 6 en la reproducción antes de aplicar el mortero para pegar las dos superficies de esta. A continuación se añadió el **polvo de piedra (*Tuffeau*)**, el **Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6)** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6.)** y por último el **gel de sílice**. Debe recordarse que el pH hay que mantenerlo a 7'5.

3. El estudio realizado sobre el **gel de sílice** dio como resultado que el **polvo de piedra** hacía un efecto “**tampón**”⁴⁶ con el **gel de sílice**. Debe ser como una crema. Si queda muy líquida, se podrá añadir 1 g más de polvo de piedra. Por cada 25 gr de mortero, 1 gr de polvo de piedra y por cada 50 gr de mortero, 2 gr de polvo de piedra.
4. Se asentó el mortero sobre las dos superficies de la ‘**Menelita**’ con una espátula y se procedió a su adhesión con sumo cuidado. Pero debido a que se había aplicado **Biomineralización** con **Nutrical n ° 6** siete horas antes, la reproducción estaba húmeda, por lo que al ir a adherirla se partió por la zona más frágil. Esto no supo ningún problema ya que con el mismo mortero se adhirió perfectamente.



Fig. 33. Adhesión de las dos superficies de la ‘**Menelita**’ con el **Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6)**

5. Posteriormente con un pincel, se aplicó suavemente **Nutrical n ° 6** ya que el mortero admite mucho nutrimento y resulta óptimo para la bacteria. La reproducción presentaba un buen aspecto. Se colocó en la caja de Petri con el

⁴⁶ **TAMPÓN** n. m. – **Quím.** *Sistema tampón*, conjunto de las sustancias tampón capaces de mantener constante el equilibrio ácido – base de un medio. **Sustancia tampón**, sustancia que cuando se halla presente en una solución, mantiene un pH relativamente constante cuando se le agrega bruscamente un ácido o una base. Larousse – Bordas, S. A., Temáticos Larousse, S. A., Editorial Larousse – Planeta. “*Diccionario Larousse 2000*”, tomo 15, p. 5559 Barcelona 1998, 16 vols., y 2 actualizados.

papel Joseph y se introdujo la reproducción en la incubadora durante tres días a 25° C.

6. Así mismo, se extrajo del molde la reproducción de *efigie indígena* que también presentaba un buen aspecto. Se podían observar con toda claridad todos los detalles originales de ésta. Igualmente se colocó en una caja de Petri con papel Joseph y se introdujo en la incubadora durante tres días a una temperatura de 25° C .
7. Pasados tres días se extrajeron de la incubadora tanto la '*Menelita*' y la *efigie indígena*. Ambas tenían un aspecto formidable.

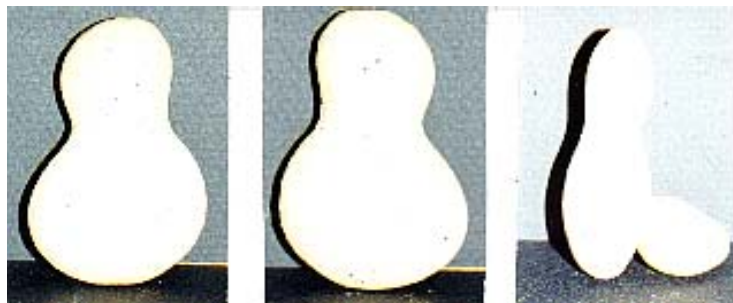


Fig. 34. Reproducción de la '*Menelita*' pequeña. Vista frontal y lateral.



Fig. 35. Reproducción de *efigie indígena*.

3. 7. 3. Resultados y comentarios

En este caso, el **ensayo n ° 6** resultó un logro importante. Se debían seguir haciendo diferentes ensayos para perfeccionar el procedimiento alcanzado.

Al observar la reproducción de la '*Menelita*' , se podía apreciar una mínima retracción debido a que las cantidades de **gel de sílice**, no eran las correctas. Pero gracias al estudio realizado en el Laboratorio de Biología y Microbiología de la Universidad de Nantes sobre el **gel de sílice**, sólo había que ajustar las cantidades de éste para conseguir una buena calidad de reproducción.

Por otra parte se había incrementado la dureza del mortero y éste admitía mayor cantidad de **Nutrical 6**. Por supuesto, pasados dos meses se debían observar mediante MEB (Microscopía electrónica de barrido) si la **Biomineralización** y *carbonato génesis* se habían desarrollado sin ningún problema.

Otros dos puntos a tener en cuenta son que el **gel de sílice** es ácido (pero se puede equilibrar el pH) y la bacteria podría no realizar una buena *carbonato génesis* y el otro punto a tener en cuenta es que el **gel de sílice** es blanco y esto es muy provechoso para el mortero ya que color puede aclararse o oscurecerse.

Por último destacar el hecho sobre el uso del mortero para la adhesión de piezas. Se realizó tanto en las reproducciones de este **ensayo n ° 6** como en la adhesión de dos clases diferentes de piedras, *St. Vast* y *Tuffeau*.

3. 7. 4. Observación mediante MEB (Microscopía Electrónica de Barrido) de la réplica de la Menelita pequeña

PLANCHA 3

Foto 1

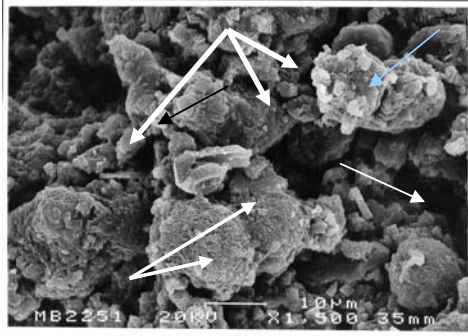


Foto 2

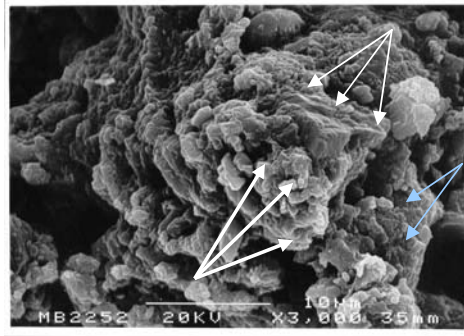


Foto 3

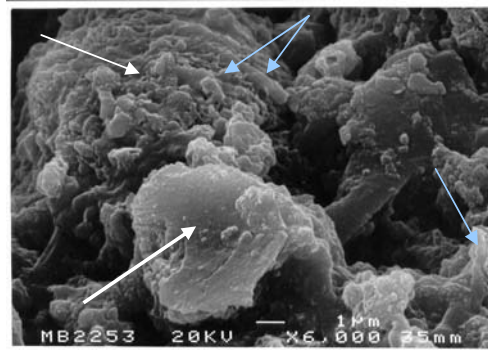


Foto 1. Las tres flechas superiores más gruesas nos muestran como la bacteria hace de puente entre varias partículas. Esto incrementa la cohesión del mortero. La flecha azul refleja como la bacteria va recubriendo la partícula con Ca CO₃ (carbonato cálcico). Las flechas inferiores menos gruesas indican la presencia de **cristobalita** propia de la piedra de *Tuffeau*.

Foto 2. Las flechas finas superiores muestran a la bacteria ya que ya empieza a estar recubierta de Ca CO₃ (carbonato cálcico). La flecha azul nos indica la presencia del *Bacillus Cereus*. Por último las flechas blancas inferiores señalan la producción típica de Ca CO₃ (carbonato cálcico) por excreción de la bacteria.

Foto 3. Las flechas azules como en las muestras anteriores, señalan cadenas de *Bacillus Cereus*. La flecha blanca indica como la bacteria a recubierto una esferolita de **cristobalita**.

3. 7. 5. Observación mediante MEB (Microscopía Electrónica de Barrido) de la réplica de una efigie indígena

PLANCHA 4

Foto 1

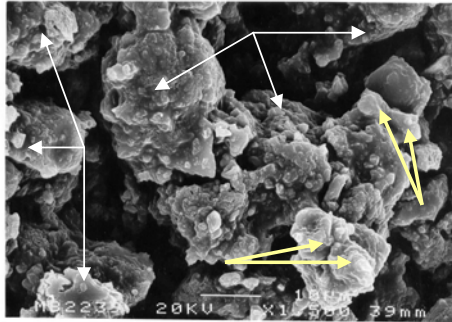


Foto 2

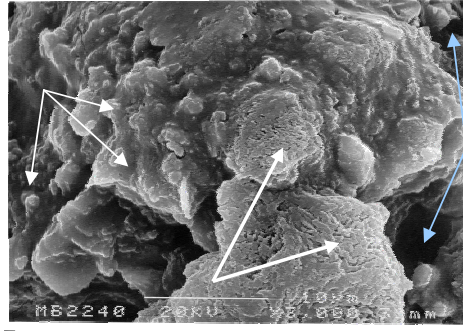


Foto 3

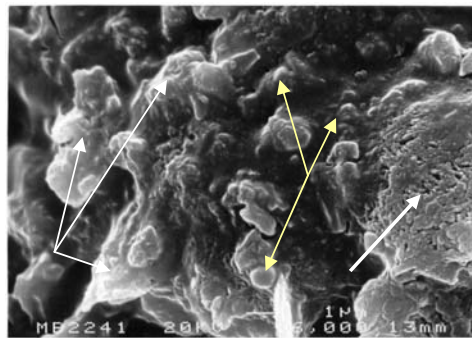


Foto 1. Las flechas amarillas nos muestran partículas de **gel de sílice** pero no se observa una buena distribución en el mortero. Sólo se localiza en ciertas zonas del mortero. Las flechas blancas nos indican como el Ca CO_3 (carbonato cálcico), han realizado un buen recubrimiento sobre las esferolitas de la **cristobalita**.

Foto 2. La flecha azul señala como los distintos huecos están siendo colonizados por la bacteria. Las flechas blancas indican como se está recubriendo la **cristobalita** con biocalcín aunque se puede seguir observando la bacteria en algunas zonas como muestran las flechas blancas más gruesas.

Foto 3. Las flechas amarillas nos muestran partículas de **gel de sílice**. La flecha blanca todavía nos deja observar la bacteria y como va recubriendo la cristobalita. Por último las flechas blancas más finas indican una buena colonización por el *Bacillus Cereus*.

Capítulo 4 : Inclusión del gel de sílice en los morteros

CAPITULO 4

INCLUSIÓN DEL POLVO DE GEL DE SÍLICE EN LOS MORTEROS: Aplicación para la realización de los moldes ⁴⁷

4. Equilibrado del pH del medio nutricional n ° 6

El polvo del **Mortero Nutricional N ° 6** esta equilibrado a un pH de 7'5 en su composición por la adición de una pastilla de Na OH (hidróxido de sodio) según se describe en la tabla de abajo .

Tabla n ° 39 :

COMPONENTES	POR 1 l	EN %	PARA 1 KG DE POLVO
PEPTONA	80 g	30,6	306 g
EXTRACTO DE LEVADURA	80 g	30,6	306 g
CaCl ₂	92 g	35,3	353 g
MgCl ₂	2 g	0,66	6,6 g
KNO ₃	4 g	1,5	15 g
NaOH	3,3 g	1,3	13 g
NATAMICINA	0,1 g	0,04	0,4 g
PESO	261,4 g	100 %	1 000 g
H ₂ O de NANTES	1000 ml		

El pH del agua de Nantes es de 7'63, antes del equilibrado del pH éste es de 6'5 y después de equilibrado con el hidróxido de sodio (Na OH) éste es de 7'5. Los componentes de éste medio tienen un pH diferente (ver párrafo siguiente). La solubilización del medio no es difícil pero esto es debido a la adición de cloruro de calcio (Ca Cl₂) donde el umbral de saturación es de 450 g / l.

⁴⁷ Dra. Mme Castanier Perthuisot. Laboratorio de biología y Microbiología. Universidad de Nantes.

4. 1. Interés de la inclusión del polvo de gel de sílice

Este polvo es normalmente utilizado en restauración en España y en otros países. Este permite, en las resinas utilizadas en los morteros, obtener una mejor cohesión además de una mayor dureza. Este es el motivo por el que ha sido añadido en los morteros biológicos. Este producto que no se encuentra en Francia, se presenta bajo la forma de un polvo muy ligero, de un color blanco ligeramente azulado y de una textura aproximada a la del algodón. El **gel de sílice** presenta la ventaja de volver a los morteros más blancos .



Fig. 36. Gel de sílice en estado puro.

Sin embargo, su integración en los morteros biológicos supone un cierto número de problemas.

¿Cuál es la cantidad a emplear?. En ensayos precedentes utilizado en la proporción de 0'5 g por 50 g de mortero final, el polvo de gel de sílice conlleva un importante fenómeno de retracción del mortero. Las experiencias siguientes, teniendo en cuenta esto, han sido realizadas con una dosis de empleo de 0'25 g por 50 g de mortero final. Es en éste caso cuando el fenómeno de retracción, desaparece.

¿El polvo de gel de sílice actúa sobre el pH del mortero, sabiendo que es un producto con tendencia ácida?. En efecto, puesto en solución en el agua destilada,

donde el pH es de 6'5, el polvo de **gel de sílice** utilizado en la proporción de 0'25 g para 15 ml, conlleva una base de pH de 0'63 (el pH llega a : 5'87).

¿La calidad del mortero se ve afectada por la integración del gel de sílice, excepto en lo que concierne a su dureza y a su color?. La cantidad empleada de 0'25 g por 50 g de mortero final, el polvo de **gel de sílice** aportado es despreciable, sobre todo cuando el polvo de piedra utilizado para fabricar el mortero es *Tuffeau*, ya rico en sílice bajo la forma de esferas de cristobalita.

¿Las bacterias carbonatogéneas se ven afectadas en su desarrollo y en la carbonato génesis por la presencia del polvo de gel de sílice?. Si alguna variación de pH no se constata, es que sería un gen a la vez para el desarrollo de las bacterias y por su actividad carbonatígena, éste producto no es inhibidor para las bacterias.

¿La mejor textura del mortero puede hacer más lentos los cambios nutritivos o gaseosos en el seno del mortero?. En la medida que las reproducciones son extraídas después de 48 a 72 horas de secado en la incubadora a 25° C y nutridos posteriormente (mediante **Biomineralización**), no ha sido constatada la limitación a la absorción del medio nutritivo sino el que es habitual.

4. 2. Impacto del gel de sílice sobre el pH de los morteros.

El **gel de sílice** añadido al mortero biológico, utilizando una dosis de 0'25 g por 50 g de mortero total (0'125 g por 25 g de mortero total). Los controles siguientes son por consiguiente efectuados sobre una concentración de 0'125 g.

4. 2. 1. Impacto del polvo de gel de sílice sobre los componentes separadamente

El primer paso es controlar la acción del **gel de sílice** separadamente sobre cada uno de los componentes del medio **Mortero Nutricional n ° 6**, a las dosis de empleo (a excepción del Na (sodio)). El componente es puesto dentro del agua destilada, pues poco después de la solubilización, el pH es medido (pH1), el pH es equilibrado para añadir NaOH (hidróxido de sodio) y el valor de éste señalado (pH2) el **gel de sílice** es ajustado, el (pH3) y la diferencia es establecida según la fórmula: $\Delta pH = pH3 - pH2$.

Tabla n ° 40

COMPONENTES Y CONCENTRACION	VOLUMEN DE H ₂ O DISTILLÉE	pH1	pH2	GEL DE SÍLICE	pH3	ΔpH
PEPTONA 1,2 g	15 ml	7,58	7,5	0,125 g	7,51	- 0,01
EXTRACTO DE LEVADURA 1,2g	15 ml	7,51	7,51	0,125 g	7,39	- 0,12
CaCl₂ 1,38 g	15 ml	8,23	7,17	0,125 g	7,15	- 0,02
MgCl₂	15 ml	5,85	7,57	0,125 g	6,38	- 0,19
KNO₃	15 ml	5,99	7,54	0,125 g	7,16	- 0,38
ACTICAL	15 ml	5,86	7,5	0,125 g	7,22	- 0,28

En la composición del medio del **Mortero Nutricional N ° 6**, dos componentes (peptona y extracto de levadura) presentan los pH neutros, un componente es fuertemente alcalino, el Ca Cl₂, y los otros tres componentes son ácidos (Mg Cl₂, KNO₃ y el Actical).

Se puede destacar que varios componentes actúan como de tampones bis a bis del añadido del **gel de sílice**. Se trata en particular de la peptona y del Ca Cl₂, puesto que las diferencias de pH son muy bajas.

4. 2. 2. Impacto del polvo de gel de sílice sobre el mortero completo

El principio del ensayo es simple. Se trata de fabricar un mortero de 25 gramos muy líquido de forma que se pueda hacer una medida de pH y a continuación de añadir la dosis de gel de sílice (0'125 g) y de medir el pH de nuevo.

OBSERVACIÓN: Es evidente la toma de un pH sobre una solución muy densa nos da una aproximación, pero lo que nos interesa es la variación del pH y no los valores reales.

El mortero (25 g) se prepara de forma tradicional según los últimos ensayos realizados en el laboratorio:

- Revivificación de la bacteria : 1 gr de *Bacteria liofilizada* + 5'25 ml del medio líquido **Mortero Nutrical N ° 6**, mantenido durante 24 a 48 horas en la incubadora.
- Preparación del mortero: 6'25g de *Bacteria revivificada* + 12'5 g de polvo de *Tuffeau* (45 µm) + 6'25 de **Mortero Nutrical N ° 6**.

El pH del mortero es entonces de 7'06. Se añade 0'125 g de polvo de **gel de sílice** y el pH no cambia. Este cambio de variación del pH es debido conjuntamente:

- al efecto tampón de la peptona y del CaCl_2 (cloruro de calcio),
- a la acción del Na (sodio),
- al efecto tampón dado por el CaCO_3 (carbonato cálcico) del propio polvo de piedra de *Tuffeau*.

Así este ensayo muestra que se puede integrar polvo de **gel de sílice** en un mortero a la concentración de 0'125g / 25g de mortero sin que haya perturbación del pH de éste y por lo tanto en la actividad de las bacterias carbonatógenas. Esta experiencia ha sido

realizada con polvo de *Tuffeau*. Esta piedra al igual que la piedra de *Novelda*, no está constituida al 100% de CaCO_3 (carbonato cálcico). La cantidad de éste producto, es sin embargo suficiente para que tamponar al polvo de **gel de sílice**. Con polvos de otras piedras más ricas en CaCO_3 (carbonato cálcico), el efecto tampón puede ser más eficaz.

Para que el efecto tampón sea lo más eficaz posible, entonces al realizar la preparación del mortero, se integrará el polvo de **gel de sílice** solamente después de haber mezclado los otros componentes.

Capítulo 5 : Pigmentos utilizados en los morteros bacterianos

CAPITULO 5

Pigmentos utilizados en el mortero bacteriano:

- **Análisis de espectrometría**
- **Observación mediante Meb (Microscopía electrónica de barrido)**

5. Introducción

La integración de pigmentos empleados en el medio nutritivo para la aplicación del procedimiento de **Biomineralización**, es realmente interesante ya que permite la creación de morteros coloreados y pátinas de diferentes colores.

Se trata de un gran campo de investigación en el que el proceso de **Biomineralización** no se detiene solo en la protección de la superficie, ya que se pueden crear morteros biológicos que se obtiene mezclando bacterias carbonatógenas, polvo calizo y medio nutritivo en proporciones variables. Se puede utilizar para reintegración y encolado de pequeñas piezas. Hay que decir que a estas mezclas también es posible añadirles pigmentos para colorearlas. Este proceso se ha utilizado a gran escala en las esculturas de la Catedral de Amiens.

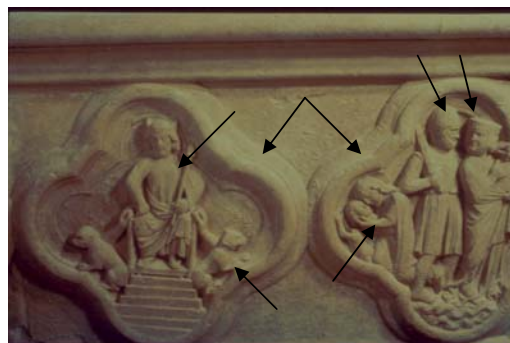


Fig. 37. Detalle de relieve de la catedral de Amiens restaurado con **Mortero biológico**

5. 1. Características de los pigmentos empleados

Los pigmentos son sustancias generalmente en forma de polvo fino, prácticamente insolubles en los medios de suspensión corrientes, que se emplean por sus propiedades ópticas, protectoras o decorativas. Se distinguen los pigmentos metálicos, minerales, orgánicos y órgano metálicos.

Los pigmentos orgánicos en el uso de los **Morteros biológicos** tienen un papel inhibidor debido a su composición química. Los pigmentos industriales son más utilizados que los pigmentos naturales pero éstos últimos, son los más utilizados por los restauradores en los monumentos y para la restauración de obras de arte.

Así las pruebas realizadas con los moldes aquí empleados, se han realizado con pigmentos naturales que favorecen directamente el desarrollo de la **carbonato génesis**.

Estos pigmentos han sido:

1. Siena oscuro
2. Amarillo ocre
3. Sombra tostada
4. Rojo indio
5. Negro de ébano

Dichos pigmentos, se analizaron en el Centro de Microscopía de la Facultad de Ciencias Técnicas de la Universidad de Nantes, bajo la dirección de la Dr. Castanier – Perthuisot. Así mismo, se analizó la **Bacteria liofilizada**, **Bacteria en espora** y el **gel de sílice**.

Se tuvo que realizar un estudio detallado de cada espectrografía, así como de las micrografías de cada componente.

A continuación se expondrán los análisis realizados mediante difracción de rayos X y MEB (Microscopía Electrónica de Barrido). Mediante estos análisis se podrá observar la composición de dichos pigmentos, así como, la observación visual mediante micrografías.

LAMINA 1

5. 2. Espectrometría de Mortero biológico fresco

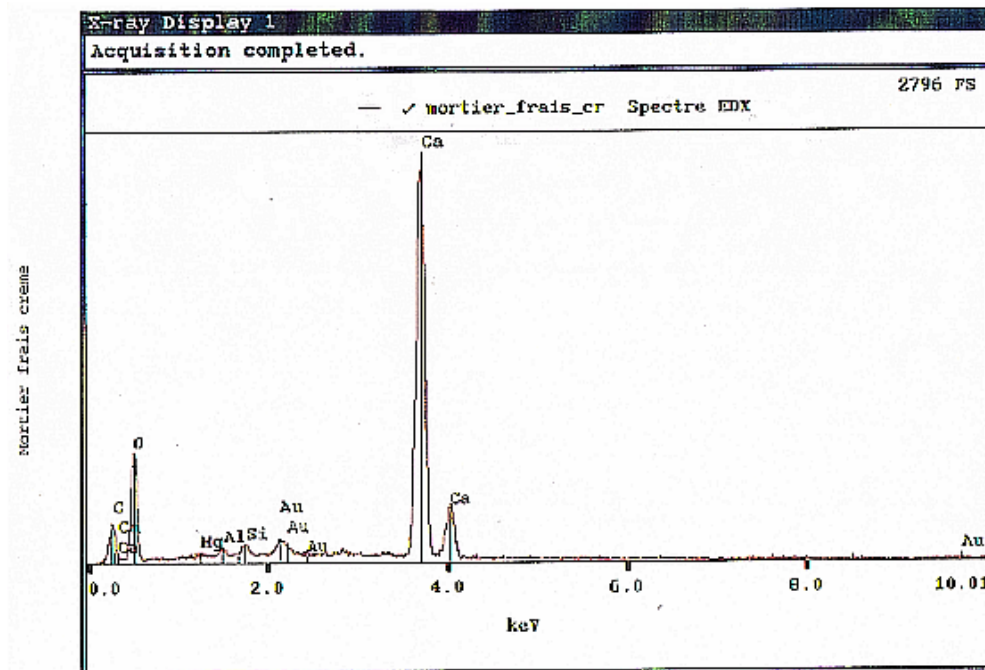


Lámina 1

Mortero fresco con polvo de piedra de **Novelda (45 µm)**, crema bacteriana y **gel de sílice**.

Con éste análisis es imposible detectar la presencia del **gel de sílice** que se había añadido ya que la proporción muy pequeña en comparación con la cantidad de polvo de **Novelda** añadido.

Se puede observar que no hay presencia de pigmento en ésta difracción de rayos X. Cuando se habla de *Bacillus Cereus* fresco, significa está en forma activa y en estado vegetativo Esto sucede con la *Crema bacteriana*.

5. 2. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 3

Foto 1

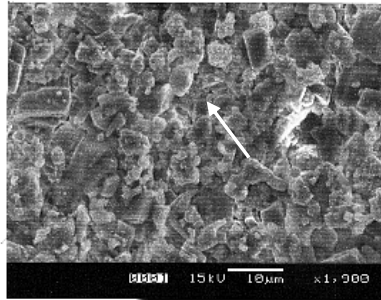


Foto 2

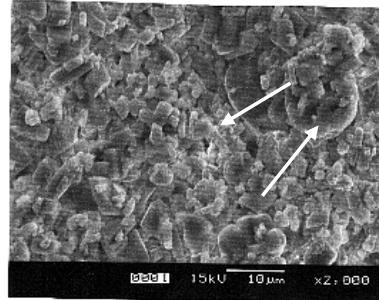


Foto 3

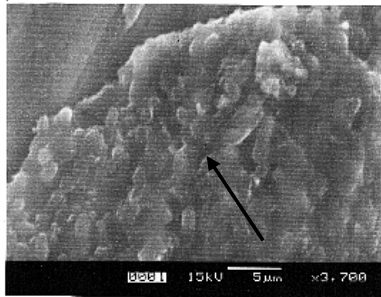


Foto 4

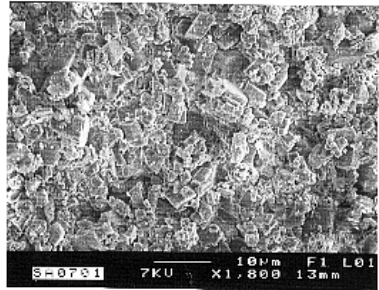


Foto 5

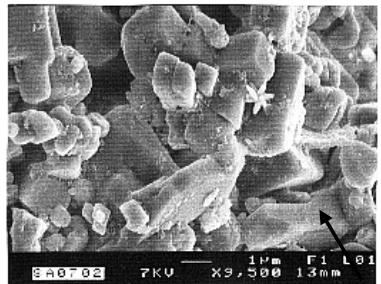


Foto 6

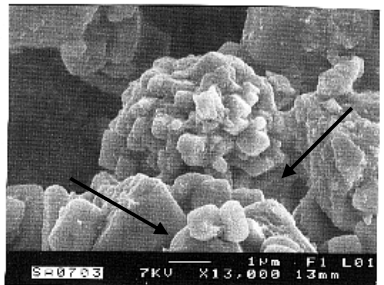


Foto 1. Observación de granos de dolomita y cristales de calcita

Foto 2. Granos de dolomita cementados con pequeños cristales de calcita.

Foto 3. Mortero biológico fresco.

Foto 4. Mortero biológico fresco aglutinado con cristales de calcita, dolomita.

Foto 5. Cristales de calcita con granos de sílice y dolomita.

Foto 6. Grano de dolomita cementado con calcita y sílice.

PLANCHA 4

Foto 7

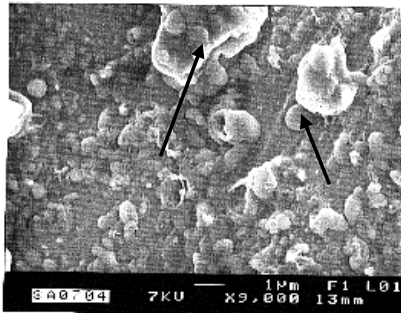


Foto 8

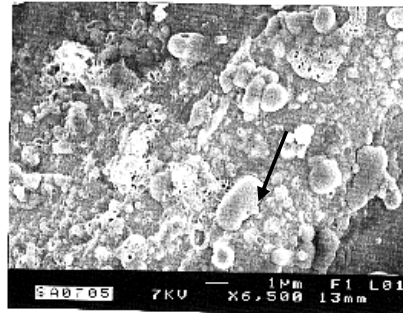


Foto 9

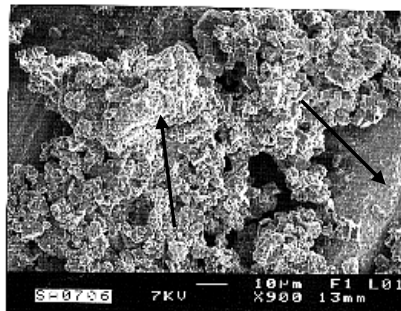


Foto 10

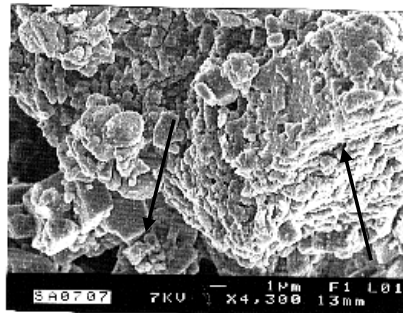


Foto 11

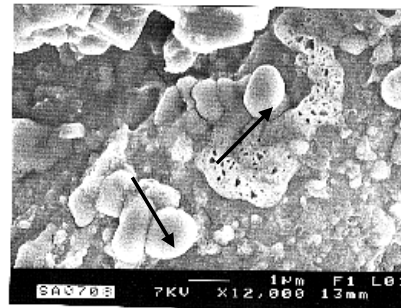


Foto 12

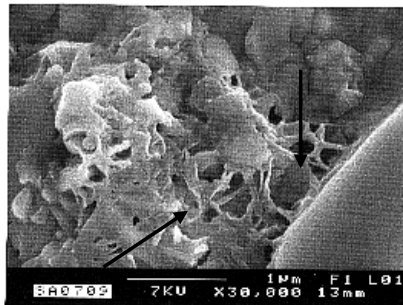


Foto 7. Mortero biológico junto con granos de dolomita.

Foto 8. Mortero biológico y observación de *Bacillus Cereus*.

Foto 9. Cristales de calcita cementada con sílice y **Mortero bacteriano**.

Foto 10. La misma micrografía aumentada donde se observa la cementación de dolomita, calcita y sílice.

Foto 11. Granos de dolomita cementada con **Mortero biológico**.

Foto 12. **Mortero bacteriano** cementado y formando un ensamblaje.

LAMINA 2

5.3. Espectrometría de Novelda (45 µm)

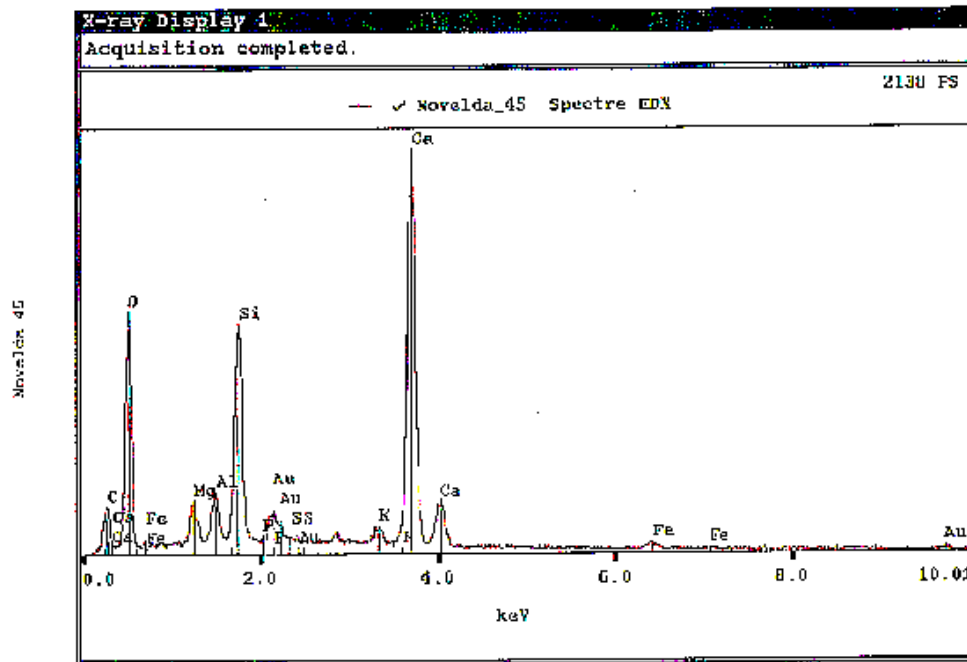


Lámina 2

Polvo de **Novelda** en estado puro. Se puede observar gran cantidad de calcita (Ca), así como, oxígeno (O) y sílice (Si).

También se puede observar hierro (Fe), potasio (K), azufre (S) y carbono (C).

Se trata de una información importante que nos ayuda en los ensayos prácticos, ya que sabemos que hay existencia de CaCO_3 y esto nos da la seguridad de que integrándolo en el mortero podremos conseguir una buena cimentación. Así mismo, se puede ver por el espectro presencia de dolomita ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) y cristobalita (SiO_2).

5.3.1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 5

Foto 1

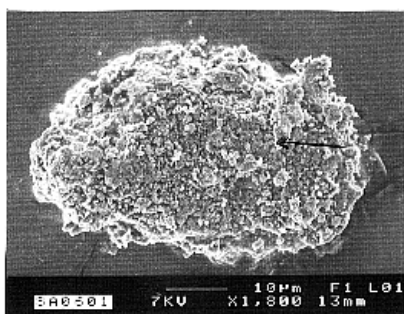


Foto 2

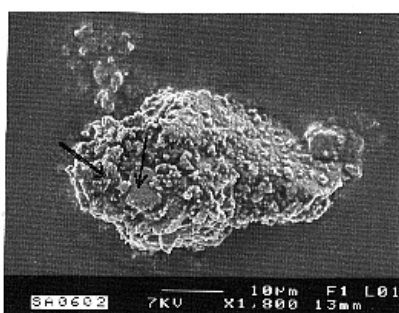


Foto 3

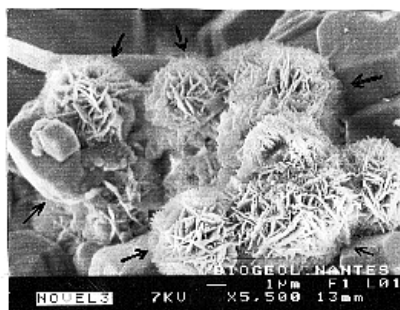


Foto 4

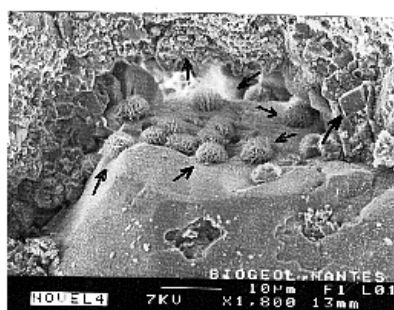


Foto 1. Vista general de polvo de **Novelda** con cristales de calcita.

Foto 2. Otro detalle de grano de calcita rodeado de sílice (Si).

Foto 3. Cristobalita en estado puro junto con cristales de calcita.

Foto 4. Otro interesante detalle donde aparece cristobalita, cubriendo como un manto un cristal de calcita.

LAMINA 3

5. 4. Espectrometría de Bacteria liofilizada

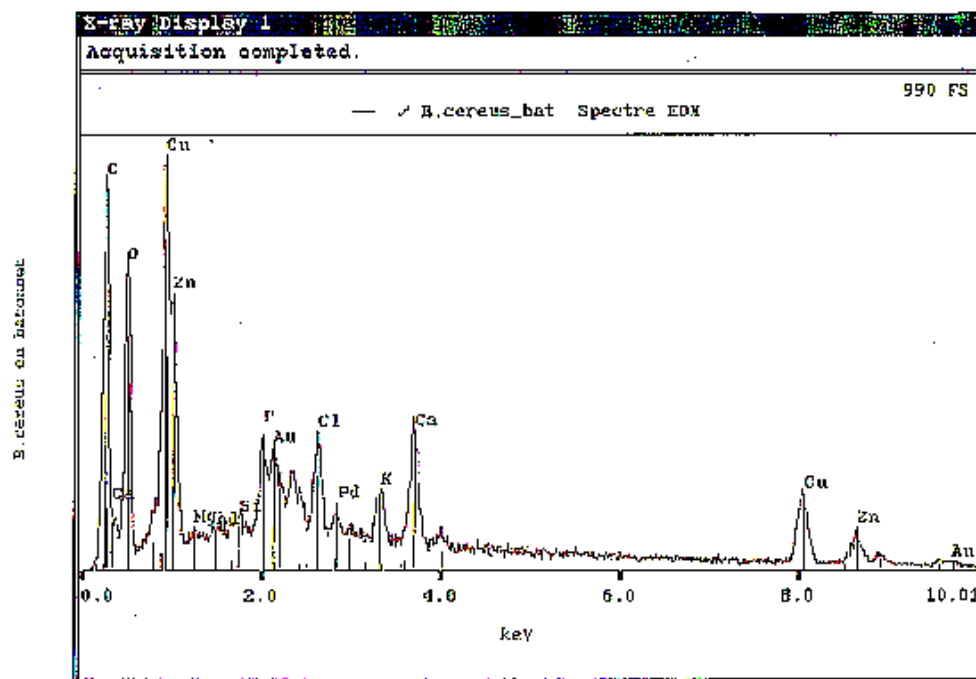


Lámina 3

Bajo la forma **liofilizada** la bacteria no tiene actividad alguna. Se encuentra deshidratada, es decir, sin agua en su interior. Se trata de una técnica para la conservación de la bacteria pero cuando a ésta le pones en agua o en el medio de cultivo, se produce la revivificación.

Por el contrario en la *Crema bacteriana*, la bacteria se encuentra mucho más concentrada debido a que se obtiene mediante centrifugación.

5. 4. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 6

Foto 1

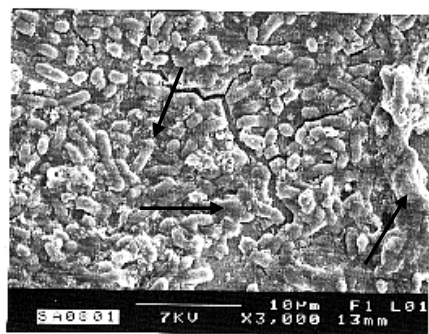


Foto 2

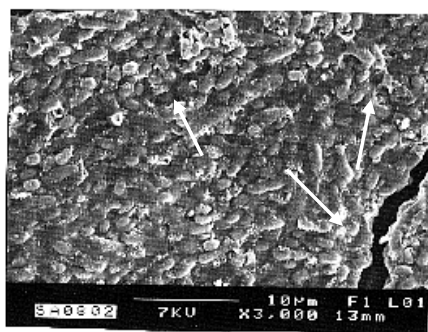


Foto 3

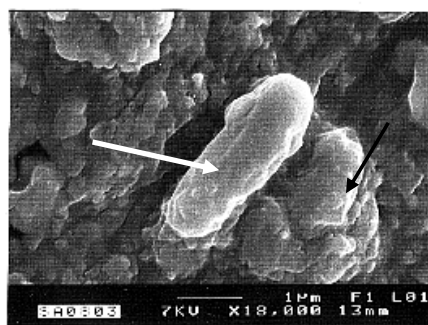


Foto 1. Se puede observar multitud de *Bacillus Cereus*, sin actividad.

Foto 2. Otra sección donde también se observa bacteria.

Foto 3. *Bacillus Cereus* sin actividad, rodeado de cristales de calcita en los que se puede observar como la bacteria ha ido creando un manto de biocalcín.

LAMINA 4

5. 5. Espectrometría de la espora del *Bacillus Cereus*

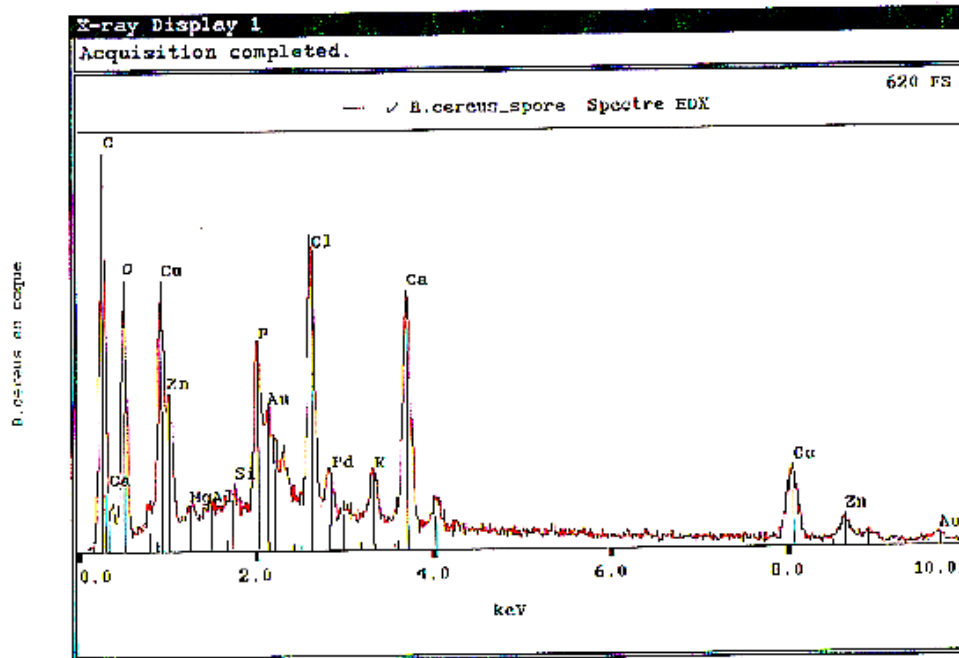


Lámina 4

Cuando nos referimos al *Bacillus Cereus* fresco significa que puede producir Ca CO_3 (carbonato cálcico). En ésta situación, cuando se encuentra en forma de espora, su estructura es muy resistente, no tiene actividad y no puede producir Ca CO_3 .

La transformación del *Bacillus Cereus* en espora (deshidratada), es resultado de las malas condiciones de vida. Esto puede ser debido a la falta de nutrientes, por falta de condiciones de respiración o una gran cantidad de productos metabólicos que son nocivos para su buen desarrollo. Normalmente, al final de la maduración se puede observar Ca CO_3 dentro de la bacteria (bastoncillos). Por lo tanto esto es muy importante para poder diferenciar las dos formas de *Bacillus Cereus*.

5. 5. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 7

Foto 1

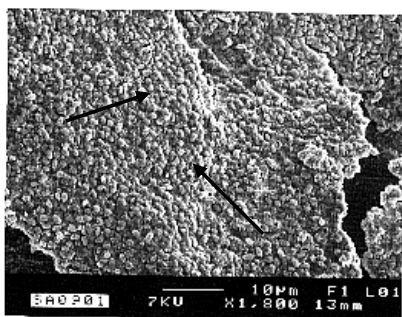


Foto 2

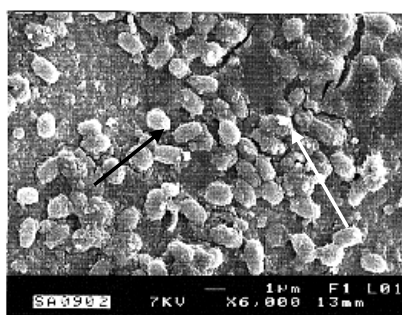


Foto 3

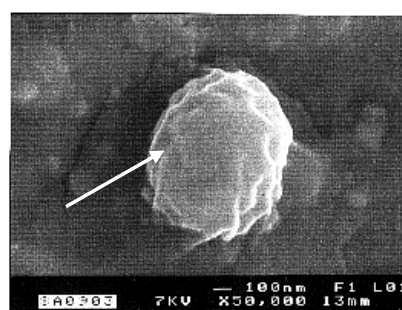


Foto 1. Observación de *Bacillus Cereus* (sin actividad) en forma de espora.

Foto 2. Detalle a 1µm donde se puede observar la espora de *Bacillus Cereus*.

Foto 3. Detalle de espora de *Bacillus Cereus* observada a 100 nm.

LAMINA 5

5. 6. Espectrometría de gel de sílice puro

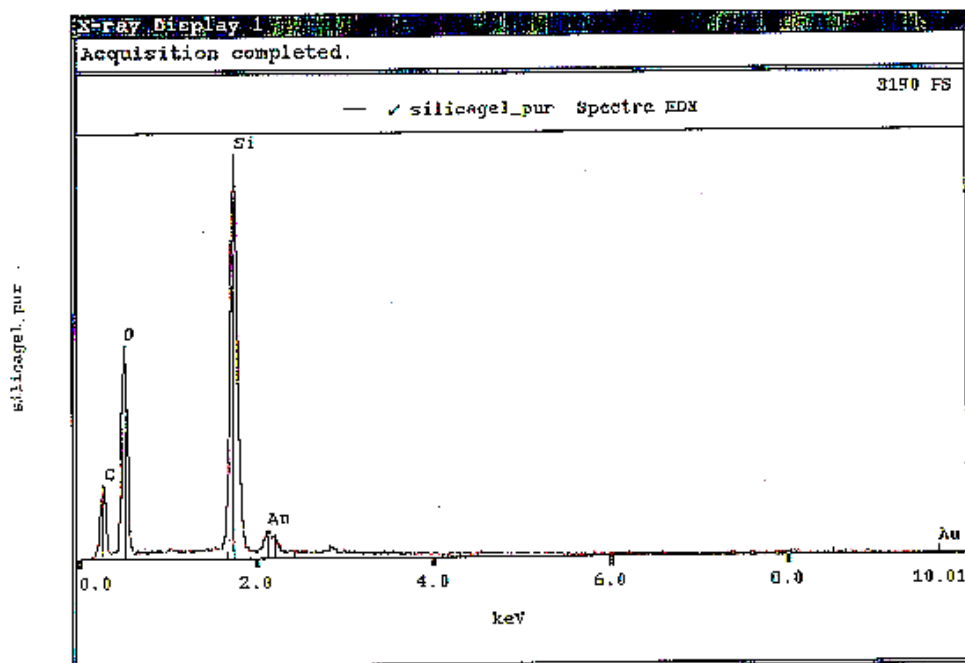


Lámina 5

El sílice se encuentra en la naturaleza en formas muy diversas de cuarzo.

El contraste entre el dióxido de carbono y el dióxido de silicio es muy pronunciado. En el dióxido de carbono sólido, la unidad estructural es la molécula, CO_2 , mientras que en el silicio la molécula no existe. Esto explica la volatilidad del CO_2 y el elevado punto de fusión y de ebullición de la sílice.

La unidad estructural de la sílice es un tetraedro, consistente en un átomo de silicio rodeado de cuatro átomos de oxígeno. Todo cristal de sílice puede considerarse como una molécula gigante; la red cristalina es sólida, y se necesita una gran energía para romperla.

5. 6. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 8

Foto 1

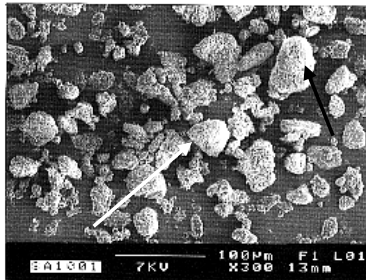


Foto 2

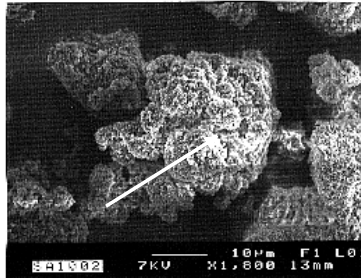


Foto 3

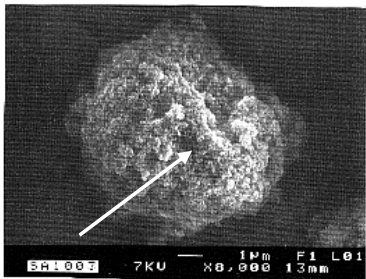


Foto 4

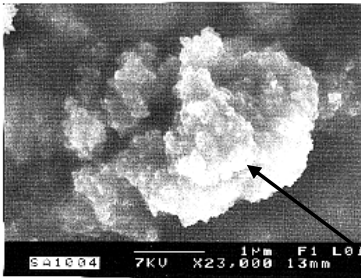


Foto 5

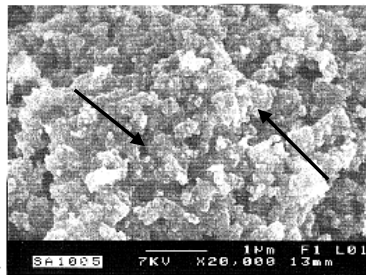


Foto 1. Cristales de sílice observados a 100 μm

Foto 2. Detalle en el que se puede observar la forma tetraédrica de éste.

Foto 3. Detalle observado a 1 μm en el que se puede observar alguna forma de cristobalita.

Foto 4. Micrografía del ácido silícico en la que se observa la forma tetraédrica.

Foto 5. Micrografía observada a 1 μm en la que se puede observar la forma cristalina del gel de sílice.

LAMINA 6

5. 7. Espectrometría del pigmento sombra tostada.

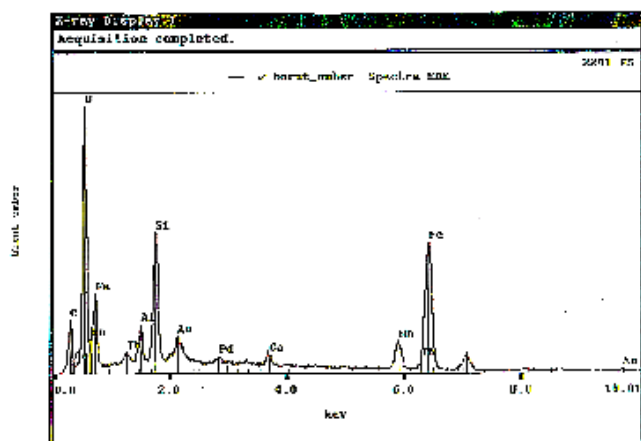
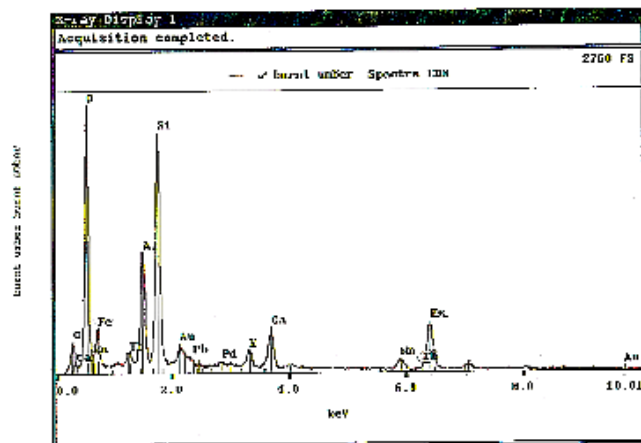


Lámina 6

En las dos espectrometrías se puede observar como el pigmento de sombra tostada está compuesto de alúmina silicatos (Al_2O_3), óxido de hierro hidratado, carbonato cálcico, así como otros compuestos como el dióxido de manganeso (MnO_2). Este tipo de pigmento se obtiene por calcinación de la natural. La aparición de Mn (manganeso), Ca (calcio), Fe (hierro) y (oxígeno) nos hace identificar la cementación como siderita. Así mismo, el Si (silicio) identifica granos de cuarzo.

5. 7. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 9

Foto 1

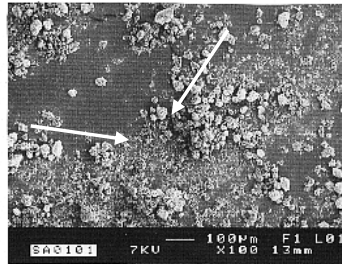


Foto 2

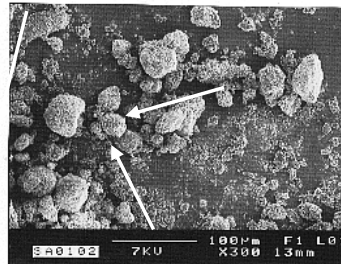


Foto 3

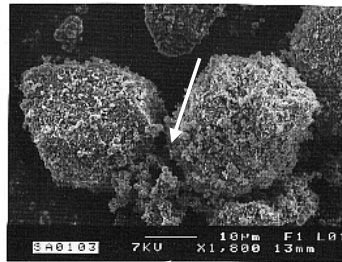


Foto 4

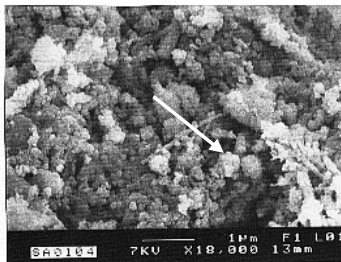


Foto 1. Micrografía en la que aparecen los granos de los distintos compuestos dispersos en la muestra.

Foto 2. Micrografía a mayor aumento en el que se observa distinto tipo de granulometría

Foto 3. Granos de pigmento en el que se pueden observar el ensamblaje de los distintos compuestos.

Foto 4. Detalle de grano compuesto de siderita y cementado por granos detríticos de cuarzo.

LAMINA 7

5. 8. Espectrometría del pigmento amarillo ocre

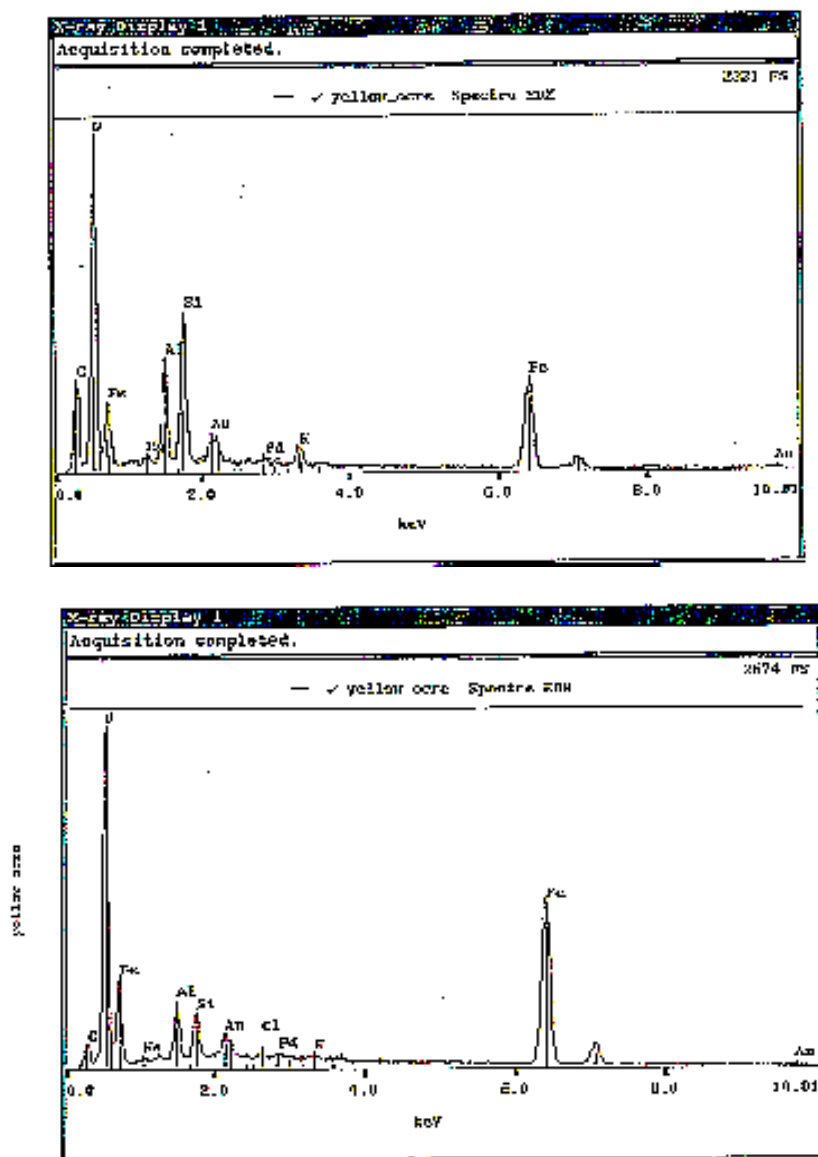


Lámina 7

El ocre es uno de los pigmentos amarillos más importantes. Químicamente son arcillas silíceas (silicatos de aluminio) que contienen óxidos de hierro hidratado. Su color amarillo es debido a los óxidos de Fe (hierro) hidratados.

5. 8. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 10

Foto 1

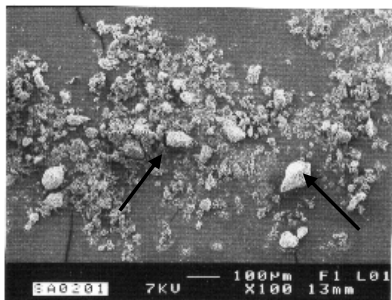


Foto 2

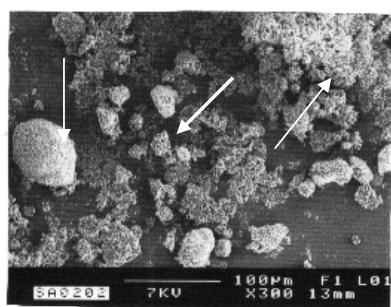


Foto 3

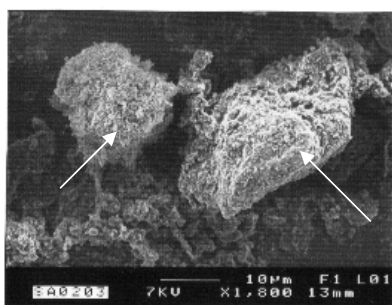


Foto 4

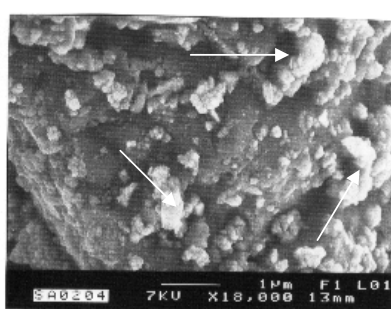


Foto 1. Micrografía con presencia de diferentes granos de pigmento.

Foto 2. Granos de cristobalita en forma estrellada.

Foto 3. Detalle de la micrografía de la **foto 2** (flecha gruesa blanca).

Foto 4. Identificación a mayor aumento de cristobalita formada por sílice.

LAMINA 8

5.9. Espectrometría del pigmento rojo indio

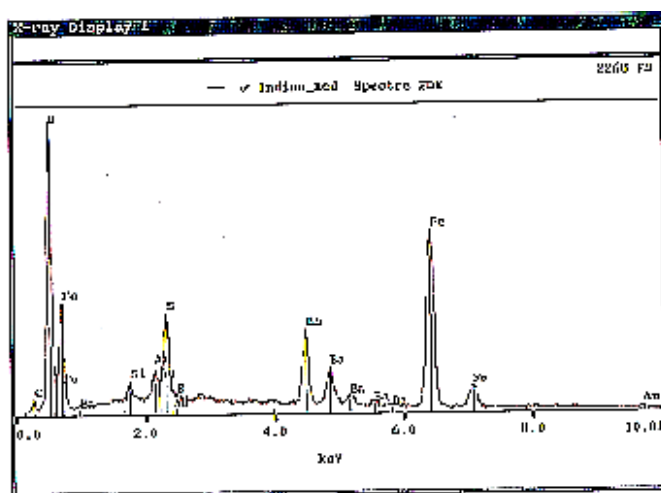
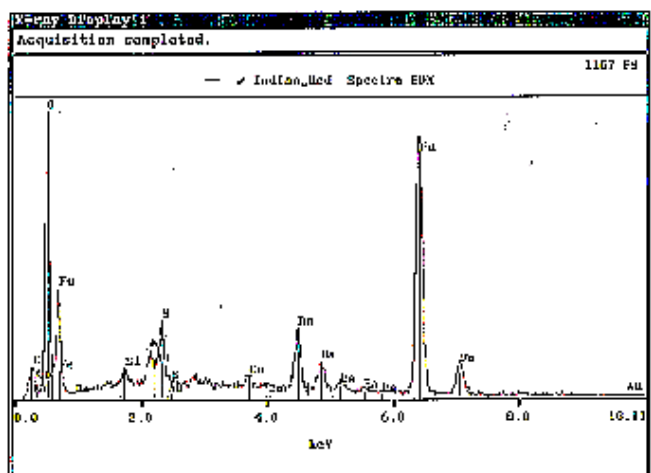


Lámina 8

Se trata de un pigmento orgánico que se extrae principalmente de la cochinilla y de la madera del Brasil. Se puede observar la existencia de carbonato cálcico, óxido de hierro, así como, sulfuro de bario y dióxido de silicio. La capa que recubre la muestra está recubierta de oro y paladio y el soporte de oro. No hay existencia de cobre y mercurio por lo que nos sirve de referencia para el estudio de futuros análisis incluyendo *Mortero biológico*.

5. 9. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 11

Foto 1

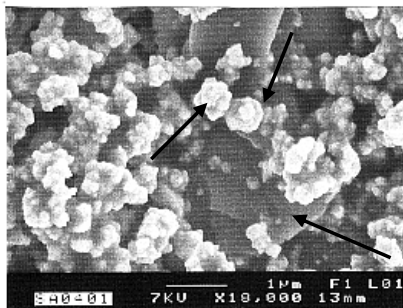


Foto 2

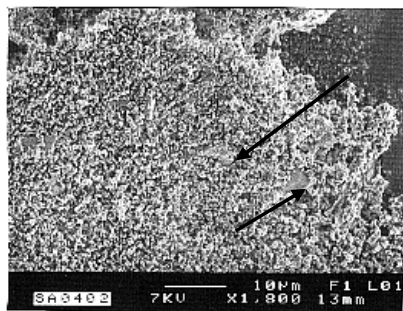


Foto 3

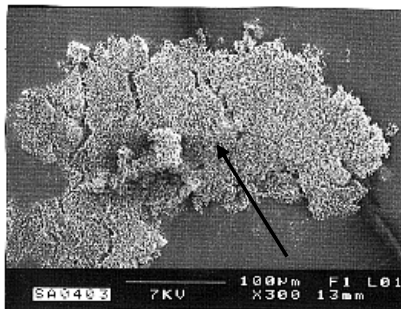


Foto 1. Detalle a 18.000 aumentos y 1 μm en el que se puede observar una cimentación perfecta, así como cristales de calcita.

Foto 2. Micrografía en la que se observa cristales de calcita y distintas clases de granos de pigmento.

Foto 3. Detalle de conjunto de la misma muestra.

LAMINA 9

5. 10. Espectrometría del pigmento siena tostada

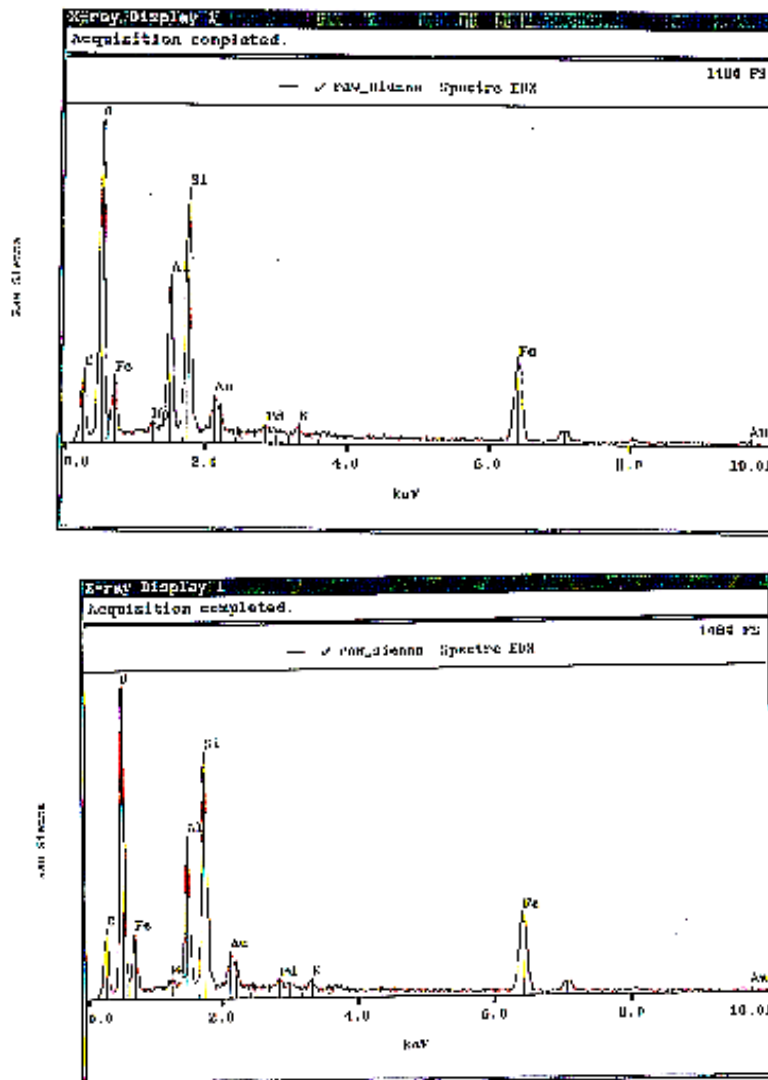


Lámina 9

Al igual que la lámina 7, el siena tostada entra en los derivados de pigmentos amarillos. Así, se puede observar los compuestos propios de ésta clase d pigmentos como silicatos de aluminio, óxidos de hierro hidratados, potasio y carbonato cálcico. Se obtiene por calcinación de la siena natural.

5. 10. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 12

Foto 1

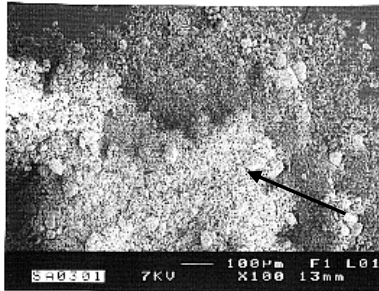


Foto 2

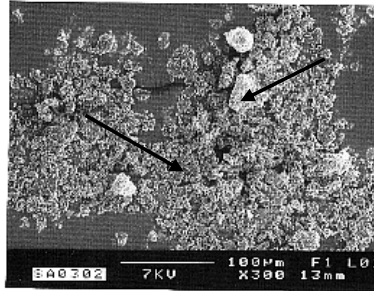


Foto 3

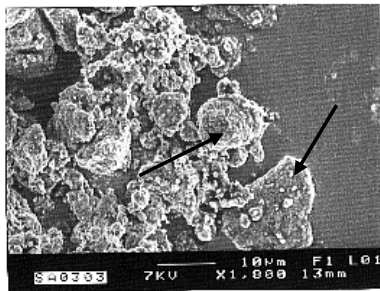


Foto 4

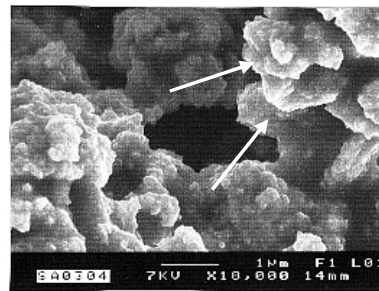


Foto 1. Micrografía realizada en modo de barrido para observar la estructura general.

Foto 2. Detalle del pigmento disperso que muestra cristales de calcita.

Foto 3. Micrografía con cristales de calcita y otros granos de pigmento de forma esferoidal, cristobalita.

Foto 4. Detalle a 10.000 aumentos donde se observa la cementación del pigmento, así como, esferoide de cristobalita.

LAMINA 10

5. 11. Espectrometría del pigmento negro de ébano

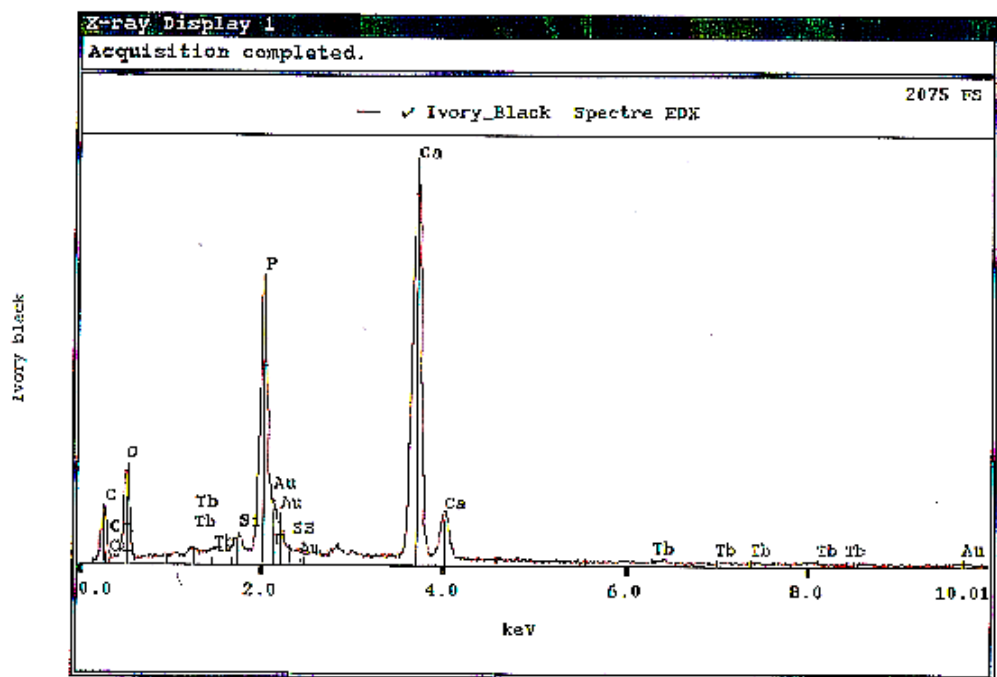


Lámina 10

El principal componente de los pigmentos negros es el carbón, su consistencia, así como la presencia de otros componentes depende del método de fabricación y de la naturaleza del material de partida. El carbón de madera tiene un negro – azulado. Se puede observar que hay presencia de carbonato cálcico (Ca CO_3), dióxido de silicio (Si O_2) y terbio (Tb). Este último compuesto mineral se encuentra en cierto tipo de minas. Se trata de una tierra muy rara de color amarillento.

5. 11. 1. Observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido

PLANCHA 13

Foto 1

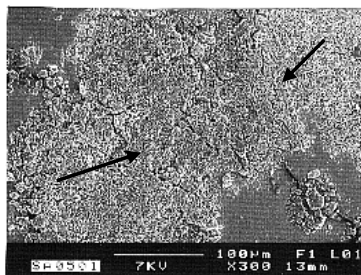


Foto 2

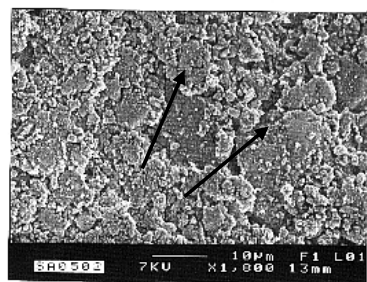


Foto 1. Detalle a 300 aumentos del pigmento analizado, se puede observar una buena unión de las partículas.

Foto 2. Micrografía a 1000 aumentos y 10 µm donde si se pueden observar cristales de calcita.

Capítulo 6: Ensayos con diferentes moldes

CAPITULO 6

Ensayos con diferentes moldes

6. Introducción

Una vez efectuado el estudio sobre el impacto del **gel de sílice** sobre el **Mortero nutritivo n ° 6** y concluido que se trata de un método viable para aplicar en los moldes, se procedió a efectuar una nueva serie de ensayos, mediante la inclusión de éste nuevo compuesto.

No se puede asegurar que sea el único procedimiento viable pero en los próximos ensayos podremos intentar corroborar que, dicho compuesto puede ser el que mejor elabore el mortero para forma réplicas lo más cercanas al original.

Dicho estudio elaborado por la Dra. Castanier – Perthuisot sólo podía ser realizado por una microbiólogo ya que está fuera del alcance de un restaurador pero por esa misma razón y como aludíamos en la introducción de éste trabajo: *“La cooperación interdisciplinar es de una importancia primordial pues hoy en día el conservador - restaurador debe trabajar en tanto que miembro de un equipo”*⁴⁸.

Los ensayos efectuados dentro de ésta parte experimental, van dirigidos a la utilización de un nuevo mortero. El **Mortero nutritivo n ° 6** ha sido reemplazado por el **Mortero nutritivo n ° 7**. Dicho mortero pensamos que era preferible para la realización de los nuevos facsímiles.

⁴⁸ “El Conservador - restaurador: Una definición de la profesión”. Punto 3: Impacto y clasificación de las actividades del conservador - restaurador 3.8. Pág. 6. Carta de Copenhague, Septiembre de 1984.

Dicho mortero se fabricó específicamente para la ejecución de estos nuevos ensayos. Como se observará a continuación, dichos ensayos no se han tratado de una labor fácil de ejecutar.

6. 1. Mortero para moldes: Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.), sólo para morteros

Como se efectuó en los ensayos del capítulo tercero los compuestos del **Mortero nutritivo n ° 6** (ver tabla n ° 1, p. 33), así mismo, especificaré cuales han sido los productos a utilizar para la ejecución del **Mortero nutritivo n ° 7**. Previamente, se debía proceder a realizar el compuesto del cual, el “*Bacillus Céreus*” debía nutrirse.

Tabla n ° 41: Cantidades para la realización del **Mortero nutritivo n ° 7** (nuevo Nutrical, N. M. 7.).

MORTERO NUTRITIVO N ° 7				
H₂O (agua destilada o mineral)	1000 ml	100 ml	50 ml	12,5 ml
Peptona	48 gr	4,8 gr	2,4 gr	0,6 gr
Extracto de levadura	48 gr	4,8 gr	2,4 gr	0,6 gr
CaCl₂	8 gr	0,8 gr	0,4 gr	0,1gr
KNO₃	4 gr	0,4 gr	0,2 gr	0,05gr
Peso total	108 gr	10,8 gr	5,4 gr	1,35 gr
Actical	20 ml	2 ml	1,0 ml	0,25 ml
Natamicina	0,1 gr	0,001 gr	0,005 gr	0,00125 ml
NaOH (pH adaptado a 7,5)	-	-	-	-

*Se utilizan las mismas proporciones para realizar el mortero.

Se pesan todos los productos y se ponen con agua en diferentes botellas de cristal. A continuación se procede a su esterilización. Si se va a utilizar en el momento, no es necesario esterilizarlo ni incluir el funguicida (**Natamicina**). En el caso de tener que utilizar **Natamicina** de 0'1 gr / l.

Tabla N ° 42: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para realizar el **Mortero nutritivo n°**

7. La bacteria sólo se puede tener en la incubadora entre 12 y 17 horas.

	*Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 7.	Peso total	Tiempo de incubación
50 gr de mortero	2 gr	10,5 ml	12,5 gr	24 H - 48 H
25 gr de mortero	1 gr	5,25 ml	6,25 gr	24 H - 48 H

*Cuando se va a incluir la bacteria ("*Bacillus Céreus*") en el Nutrical n ° 7, se debe realizar cerca del mechero de gas si el Nutrical n ° 7 está esterilizado.

Tabla n ° 43: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (*Novelda*) y producto adicional (gel de sílice) para hacer distintas cantidades de Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.).

	Bacteria revivificada 12 - 17 h	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (Novelda)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
50 gr de mortero	12,5 gr	12,5 ml	25 gr de 45 µm	0,250 gr	50,250 gr
25 gr de mortero	6,25 gr	6,25 ml	12,5 gr de 45 µm	0,125 gr	25,125 gr
12,5 gr de mortero	3,15 gr	3,15 ml	6,25 gr de 45 µm	0,0625gr	12,612 gr

6.2 . Ensayo n ° 1

A. En este ensayo vamos a utilizar dos clases de mortero:

1. *Bacteria liofilizada*

2. Crema bacteriana

A. Cantidades de *Crema bacteriana* y *Bacteria liofilizada* que se van a utilizar en los moldes de las caras, monedas y hielo.

6. 2. 1. Bacteria liofilizada

Tabla n ° 44: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para hacer mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.). La bacteria ("*Bacillus Céreus*") sólo se puede dejar en la incubadora entre 12 y 17 horas.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 7	Peso total	Tiempo de incubación
50 gr de mortero	2 gr	10,5 ml	12,5 gr	12 h – 17 h

Tabla n ° 45: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (Novelda) y producto adicional (gel de sílice) para realizar diferentes cantidades de mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.).

	Bacteria revivificada 12 - 17 h	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (Novelda)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
50 gr de mortero	12,5 gr	12,5 ml	25 gr de 45 µm	0,250 gr	50,250 gr

6. 2. 2 Crema bacteriana

Tabla n ° 46: Cantidades de *Crema bacteriana*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (Novelda) y producto adicional (gel de sílice) para realizar distintas cantidades de N. M. 7..

	Crema bacteriana	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (Novelda)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
40 gr de mortero	10 gr	10 ml	20 gr de 45 µm	0,200 gr	40,20 gr

Se iban a utilizar 6 clases de pigmentos en 4 ensayos distintos. Por tanto, se realizarían 48 moldes distintos.

6. 2. 3. Realización del mortero

Se va hacer el mortero con *Bacteria liofilizada* y con *Crema bacteriana*, sin pigmentos.

Tabla n ° 47: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (*Novelda*) y producto adicional (gel de sílice) para hacer el mortero sin pigmentos.

	Bacteria revivificada	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (<i>Novelda</i>)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
360 gr de mortero sin pigmentos	90 gr	90 ml	180 gr de 45 µm	1,8 gr	360 gr

Tabla n ° 48: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para hacer 90 g de *Bacteria revivificada* y realizar el mortero sin pigmentos.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 7	Peso total	Tiempo de incubación
90 gr de mortero	14,4 gr	75,6 ml	90 gr	12 – 17 h

Tabla n ° 49: Cantidades de *Crema bacteriana*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (*Novelda*) y producto adicional (Gel de sílice) para hacer el mortero sin pigmentos

	Crema bacteriana	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (<i>Novelda</i>)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
360 gr de mortero sin pigmentos	90 gr	90 ml	180 gr de 45 µm	0,9 gr	360 gr

6. 2. 4. Obtención de la Biomasa

La obtención de la biomasa se realiza con un a centrifugadora refrigerada:

SIGMA 6K 10.

Se realiza un cultivo bacteriano en un medio de biomasa compuesto de:

Peptona: 8gr / 1000ml

Extracto de levadura: 8gr /1000ml. Estas medidas son para hacer el 1^{er} experimento con crema bacteriana

KNO₃: 4gr / 1000ml

Sal natural (sal gorda): 7gr /1000ml.

H₂O: 1000ml.

Con un pH equilibrado a 7'5 con NaOH, antes de la esterilización.

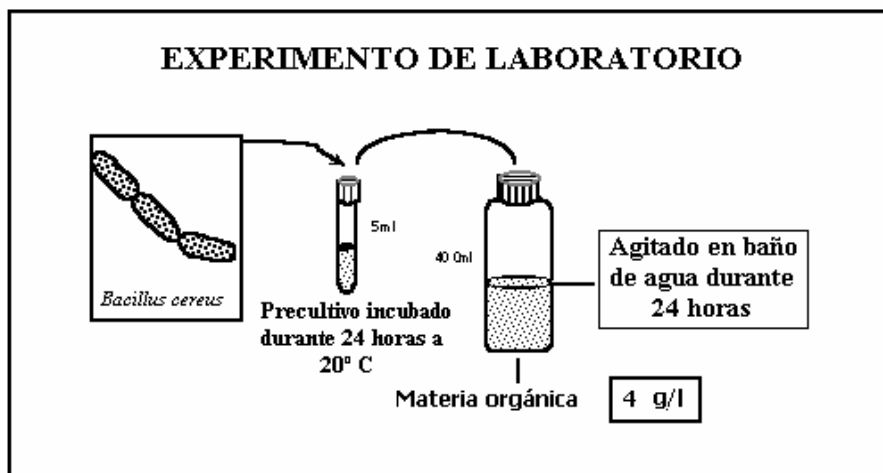


Fig. 38. Obtención de la *Biomasa*.

6. 2. 5. Obtención de la Crema bacteriana

Para obtener la crema bacteriana hay que realizarlo con la centrifugadora arriba especificada. Este proceso no se puede realizar en España porque no se puede tener fácil acceso a la maquinaria adecuada.

La centrifugación de la biomasa se realiza durante 10 o 15 minutos.

8000 rotaciones / mn.

Temperatura: 10° C

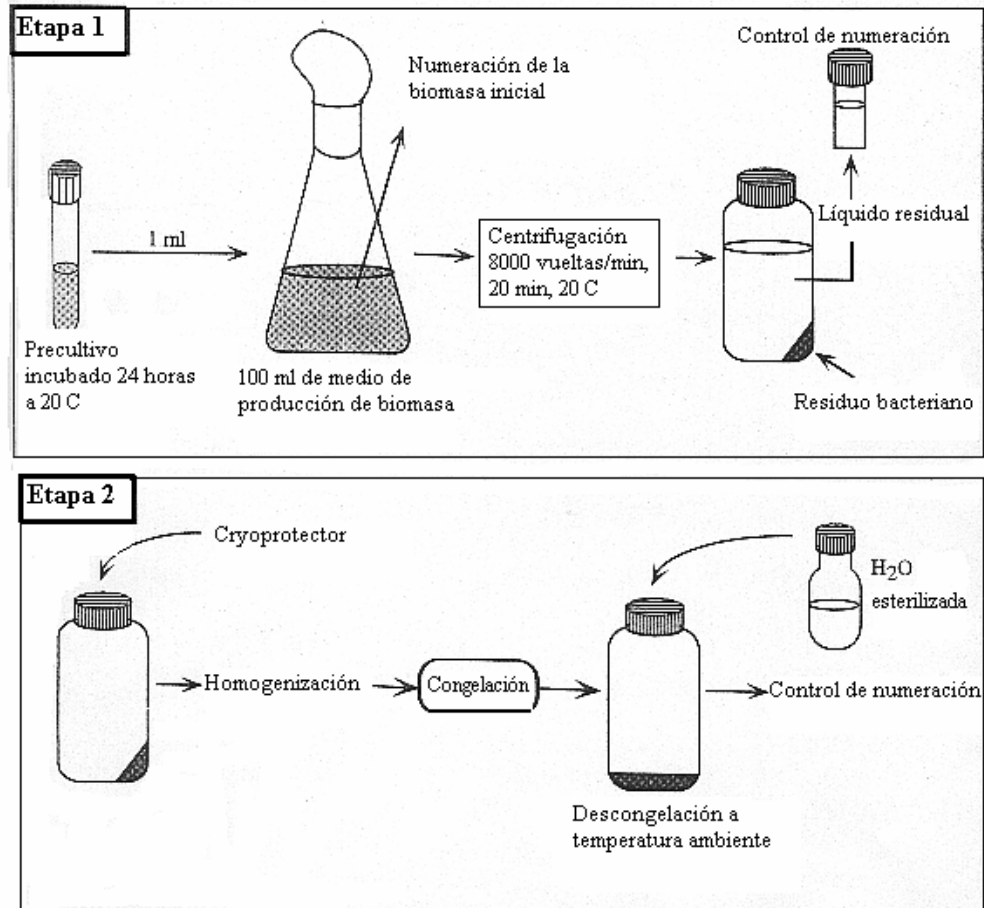


Fig. 39 Método de centrifugación y congelación para la obtención de la biomasa.

Tras la centrifugación, el medio nutritivo (fase superior) se ha eliminado y se ha recuperado la *Crema bacteriana* en condiciones estériles y se ha puesto en botellas esterilizadas. Se mantienen en frigorífico a 4° C. Como máximo se puede mantener en estas condiciones durante 3 o 4 días.

6. 2. 6. Realización del mortero

Se pasó a realizar la primera parte del ensayo con pigmentos, una vez obtenida la crema bacteriana. Se van a preparar 360 g de mortero sin pigmentos.

Tabla n ° 50: Cantidades de *Crema Bacteriana*, *Nutrical n ° 7*, polvo de piedra (*Novelda*) y producto adicional (gel de sílice) para preparar el mortero sin pigmentos.

	Crema bacteriana	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (<i>Novelda</i>)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
360 gr de mortero sin pigmento	90 gr	90 ml	180 gr de 45 µm	0,9 gr	360 gr

Para esta cantidad de mortero se debe preparar 100 ml de **Nutrical n ° 7**. No es necesario esterilizar el medio nutritivo ya que se va a utilizar inmediatamente.

Hay que tener siempre cuidado cuando se añada **Nutrical n ° 7**, ya que puede quedar muy líquido. Hay que empezar con menos de la cantidad indicada. Por ejemplo, si hay que poner 15 ml , empezaremos con 2 ml e iremos añadiendo más en función de la necesidad del mortero.

Tabla n ° 51: Preparación de **Nutrical n ° 7**. Sólo utilizado para la realización de morteros.

H₂ O	1000 ml	100 ml	50 ml
Peptona	48 gr	4'8 gr	2'4 gr
Extracto de levadura	48 gr	4'8 gr	2'4 gr
Ca Cl₂	8 gr	0'8 gr	0'4 gr
K NO₃	4 gr	0'4 gr	0'2 gr
Actical	20 ml	2 ml	10 ml

A partir de estas medidas se puede calcular la cantidad de Mortero nutritivo n ° 7 que queremos hacer.

En este caso vamos sólo a utilizar 50 ml para añadir a la *Crema bacteriana* y a los pigmentos que vayamos a añadir.

6. 2. 7. Pigmentos que se van a utilizar en este experimento

1. Siena oscuro
2. Amarillo ocre
3. Sombra tostada
4. Rojo indio
5. Negro de ébano
6. Blanco de España

Se ha realizado la mezcla de la *Crema bacteriana* y posteriormente se ha procedido a pesar cada pigmento para añadirlo a la mezcla y colocarlo en el molde correspondiente, especificados en las tablas siguientes.



Fig. 40. Moldes A y B realizados con el mortero nutritivo n ° 7 y los distintos pigmentos anteriormente nombrados.

Tabla n ° 52: Moldes A y B donde se han realizado los experimentos con la integración de pigmentos. Se tratan de moldes de cubitos de hielo hechos de silicona.

MOLDE A

Siena oscuro	MUESTRA A1	0'08 gr
	MUESTRA A2	0'30 gr
	MUESTRA A3	0'50 gr
	MUESTRA A4	0'75 gr
Amarillo ocre	MUESTRA A5	0'08 gr
	MUESTRA A6	0'30 gr
	MUESTRA A7	0'50 gr
	MUESTRA A8	0'75 gr
Sombra tostada	MUESTRA A9	0'08 gr
	MUESTRA A10	0'30 gr
	MUESTRA A11	0'50 gr
	MUESTRA A12	0'75 gr
Muestra sin pigmento		

MOLDE B

Rojo indio	MUESTRA B1	0'008 gr
	MUESTRA B2	0'030 gr
	MUESTRA B3	0'050 gr
	MUESTRA B4	0'075 gr
Negro ébano	MUESTRA B5	0'008 gr
	MUESTRA B6	0'030 gr
	MUESTRA B7	0'050 gr
	MUESTRA B8	0'075 gr
*Blanco de España	MUESTRA B9	0'48 gr
	MUESTRA B10	1'8 gr
	MUESTRA B11	3 gr
	MUESTRA B12	4'5 gr
Muestra sin pigmento		

Nos vimos obligados a cambiar la concentración de algunos pigmentos por que los colores quedaban demasiado claros. En las muestras del Blanco de España, se comenzó a realizar los ensayos con las mismas cantidades que con los otros pigmentos

pero no había casi variación de color, por lo que se decidió ir incrementándolo poco a poco, hasta conseguir el color deseado.

Una vez realizado dicho experimento, sobró suficiente crema bacteriana y se decidió realizar la reproducción del molde de un '*Amonites*' pequeño.

6. 3. Molde pequeño de Amonites

Para este ensayo se realizó previamente el molde de un '*Amonites*'⁴⁹ pequeño. El molde se efectuó sin contra molde para mayor rapidez del ensayo. Esto no supone ningún problema para la ejecución de la reproducción.



Fig. 41. Realización con plastilina, del molde del pequeño '*Amonites*'.

⁴⁹ **Amonita** o **Amonites**. (masc. y fem.). Cefalópodo fósil de forma espiral de la era mesozoica (secundario), perteneciente a la clase de ammonoideos, abundante en los sedimentos marinos. Las conchas de amonita se reconocen por su arrollamiento plano, generalmente espiral, muy prieto , y con una línea sutural muy compleja compuesta de lóbulos o cámaras en la pared externa. Las especies más recientes, del cretáceo superior, están más o menos extendidos. Moliner, María, *Diccionario de uso del español*, Gredos, Madrid 1989, 2 vols., (A – G) LVI – 1446 pp.; (H – Z) 1590 pp.



Fig. 42. Molde, registros y 'Amonites' original.



Fig. 43. El mismo molde ya con silicona en su interior.

Tabla n ° 53: Productos y medidas utilizados para dicho molde compuesto de dos caras.

	Mortero	Colores integrados		Peso total de pigmentos
		Siena oscuro	Sombra tostada	
1ª Cara	30 gr	1'44 gr	0'06 gr	1'5 gr
2ª Cara	15 gr	0'69 gr	0'06 gr	0'75 gr



Fig. 44. Molde 'Amonites' (pequeño) original realizado en Silastic RTV - 3481

Tanto el primer ensayo como el segundo permanecieron seis días en la incubadora, de forma que pudieran secarse mejor.

Pasados seis días, dichas muestras se extrajeron de sus moldes correspondientes, observándose que sobre estas habían aparecido hongos, por lo que se decidió realizar **40 ml** de **producción bacteriana (biomasa)** en condiciones estériles para la primera aplicación de la **Biomineralización** y los cuatro días siguientes se añadiría al **Nutrical n ° 7** para nutrir a la **Bacteria** y un fungicida (**Benlate**).



Fig. 45. Reproducción de las dos caras del 'Amonites' (pequeño) ya en proceso de **Biomineralización**.

6. 3. 1. Cálculo total de la superficie de los moldes realizados, para aplicar la Biomineralización

$$\begin{array}{l}
 \begin{array}{c} 0'0325\text{cm} \\ \text{0'02 cm} \end{array} \begin{array}{c} \text{0'005 cm} \\ 2 \text{ cm} \times 3'25 \text{ cm} \times 0'5 \text{ cm} \\ 0'02 \times 0'00325 \times 0'005 \text{ (m)} \end{array} \\
 \text{Superficie de un molde.} \\
 (0'02 \times 0'0325) \times 2 = 0'0013 \text{ m}^2 \\
 (0'02 \times 0'005) \times 2 = 0'0002 \text{ m}^2 \\
 (0'02 \times 0'005) \times 2 = 0'00035 \text{ m}^2 \\
 \text{Superficie total} = 0'00185 \text{ m}^2 \\
 \text{Para 26 moldes} \longrightarrow 0'0481 \text{ m}^2 \\
 + \text{'Amonites' pequeño} \\
 - \text{Ø de amonites pequeño} = 4'5 \text{ cm} \longrightarrow 0'045 \text{ m} \\
 128
 \end{array}$$

Superficie ΠR^2

$$- R = 2'25 \text{ cm} = 0'025 \text{ m}$$

$$\text{Superficie de arriba} = 0'0020$$

$$\text{Arriba y abajo} = \times 2 \longrightarrow 0'004 \text{ m}^2$$

$$- \text{Perímetro } 2\Pi R = 0'157$$

$$\text{Superficie del corte: } 0'157 \times 0'01 = 0'002 \text{ m}^2$$

$$\text{Superficie total: } 0'004 + 0'002 = 0'006 \text{ m}^2$$

-Total de la superficie de los moldes y amonites pequeño:

$$= 0'0481 + 0'006$$

$$= 0'0541 \text{ m}^2$$

↓

$$40 \text{ ml} = 0'04 \text{ litros}$$

$$0'0541 \text{ m}^2 \longrightarrow 0'04 \text{ litros}$$

$$1 \text{ m}^2 \longrightarrow 0'739 \text{ litros}$$

Para la nutrición

Se necesitan 50 ml por día.

Benlate : 0'1 gr / l

Natamicina: 0'1 gr / l

En estos ensayos vamos a utilizar **Benlate** aunque en Francia ha dejado de fabricarse. Ahora normalmente se utiliza **Natamicina**.

El pH de la **Biomasa** después del desarrollo de la bacteria es de 7 (con este pH no hay proliferación de hongos normalmente).

6. 3. 2. Aplicación de la Biomineralización

Tabla n ° 54: Cantidad de **Bacteria (Biomasa)**⁵⁰ y **Nutrical n ° 7** que necesitamos para aplicar la **Biomineralización** en los **moldes A y B** así como el '**Amonites**' pequeño.

⁵⁰ Ver : Fig. 39, p. 130 (como se obtiene la **Biomasa**).

Biomasa (producción bacteriana)	Nutrical n ° 7
10 ml de precultivo	1000 ml
1 ml de precultivo	100 ml

Sólo se hace uso de **100 ml** porque no se necesita más cantidad. Se utiliza esta cantidad para aplicarla en los **moldes A y B**, así como en el '*Amonites*' pequeño. Se realiza la **Biomíneralización** durante cinco días aplicando la bacteria el primer día y los cuatro días siguientes se aplica simplemente el medio nutritivo para su alimentación y un funguicida (Benlate) para evitar la aparición de hongos.



Fig. 46. Reproducciones de el molde de hielos (blanco de España y siena oscuro) y '*Amonites*' pequeño en proceso de **Biomíneralización**.



Fig. 47. Reproducciones de el molde de hielos (amarillo ocre y sombra tostada), en proceso de **Biomíneralización**.



Fig. 48. Reproducciones de el molde de hielos (**rojo indio y negro ébano**), en proceso de **Biomineralización**.

Tabla n ° 55: Compuestos y cantidades para la aplicación de la **Biomineralización**.

Ahora para la **Biomineralización** utilizamos **Nutrical n ° 7** y **Benlate** como funguicida: **0'1gr / l.**, en este caso ya se comprobó que sólo necesitamos 50 ml.

	Nutrical n ° 7	Biomasa (Producción bacteriana)	Benlate
1^{er} día	100 ml	1 ml de precultivo	0'005 gr
2^o día	50 ml		0'005 gr
3^{er} día	50 ml		0'005 gr
4^o día	50 ml		0'005 gr
5^o día	50 ml		0'005 gr

6. 3. 3. Resultados y comentarios

En estos dos ensayos se ha realizado la inclusión de **gel de sílice** una vez realizado el estudio para saber cómo afectaba éste al mortero. Por el momento se ha podido comprobar que no hay retracción en ninguna de las replicas realizadas.

Como se ha dicho anteriormente, hubo que cambiar la concentración de algunos pigmentos por que los colores quedaban demasiado claros. Esto mismo sucedió con el Blanco de España y se tuvo que incrementar en una cantidad muy superior a los otros pigmentos.

Por otra parte, al extraer las reproducciones de sus moldes, se observó la aparición de hongos en la superficie de estos. Dadas estas circunstancias, se optó por realizar la **Biomineralización** incluyendo un **funguicida (Benlate)** en el **Nutrical n ° 7** cuando se nutriese a la bacteria.

Hay que destacar que en ninguna de las reproducciones aparecieron burbujas ni grietas. En los moldes pequeños no se podía apreciar ninguna forma pero en el molde del '**Amonites**' pequeño hay que destacar que se podían observar todos los detalles de éste.

Por último, al incluir pigmentos en el mortero aumenta la cantidad de éste pero no disminuye su eficacia.

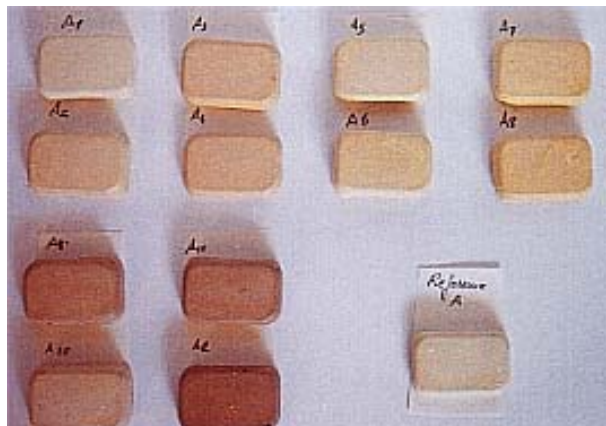


Fig. 49. A. Reproducción final de los moldes de hielo (siena oscuro, amarillo ocre y sombra tostada).

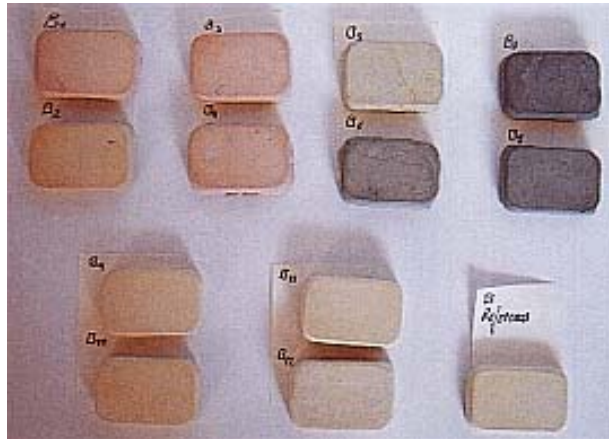


Fig. 50. B. Reproducción final de los moldes de hielo
(rojo indio, negro ébano y blanco de España).

Hay que especificar que tras la **Biomineralización**, se procedió a la adhesión del '*Amonites*' pequeño realizado con **Mortero bacteriano**. Para esta adhesión se aprovecho crema de otro ensayo posterior.



Fig. 51. Reproducción del '*Amonites*'
pequeño con *Crema bacteriana*.

6. 3. 4. Observación de mortero con pigmentos mediante MEB (Microscopía Electrónica de Barrido)

PLANCHA 14

Foto 1

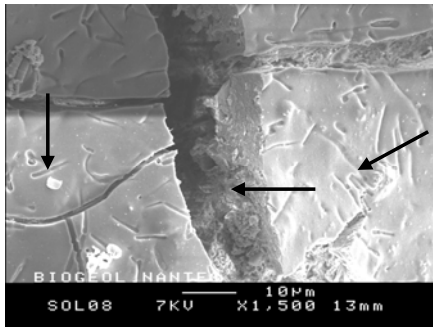


Foto 2

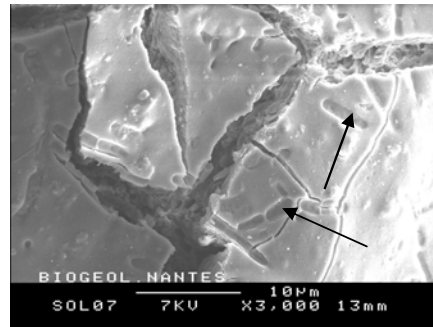


Foto 3

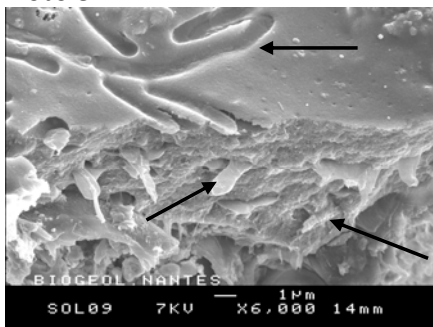


Foto 4

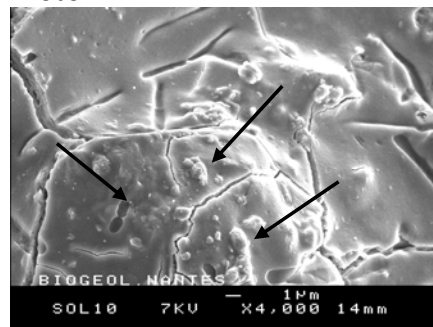


Foto 1. Pigmento rojo indio (0'075 g /15 g de mortero con **Biomineralización**). Biocalcín con grieta.

Foto 2. Detalle de Biocalcín.

Foto 3. *Bacillus Cereus* con *Bacillus Pumilus* dentro del Biocalcín y vista de celdilla en la parte inferior.

Foto 4. Biocalcín con detalle de *Bacillus Cereus* (pequeño) y *Bacillus Pumilus* (grande).

PLANCHA 15

Foto 1

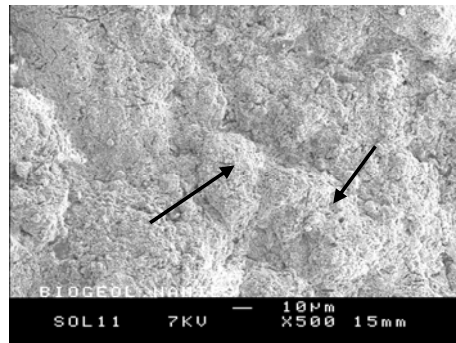


Foto 2

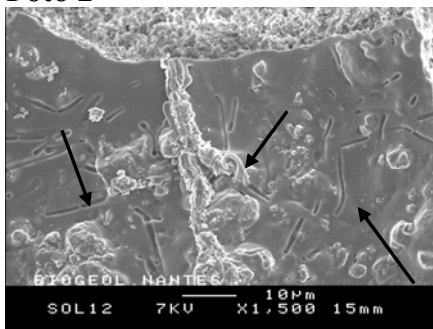


Foto 3

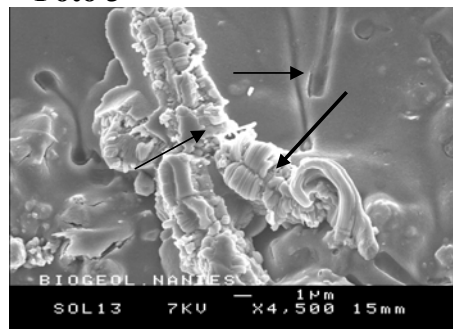


Foto 4

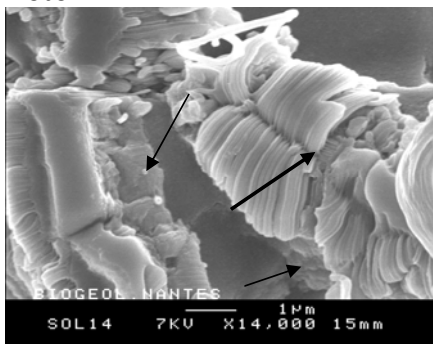


Foto 5

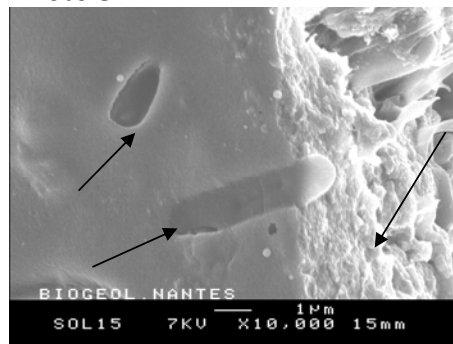


Foto 1. Mortero biológico. Vista general en la que se observa una buena cohesión.

Foto 2. Pigmento negro ébano (0'075g / 15g de mortero) con **Biomineralización** realizada con **Nutrical n ° 7** y en el interior, presencia de *Bacillus Cereus* y *Bacillus Pumilus*.

Foto 3. Pigmento sobre el biocalcín, con los dos tipos de *Bacillus*.

Foto 4. Detalle de pigmento negro ébano.

Foto 5. Los dos *Bacillus* sobre el biocalcín.

Foto 1

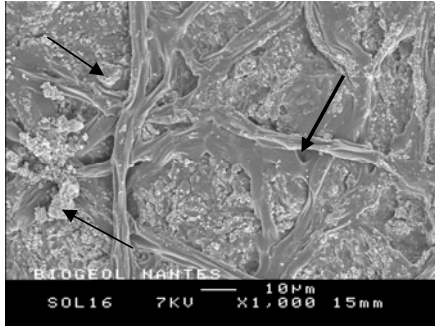


Foto 2

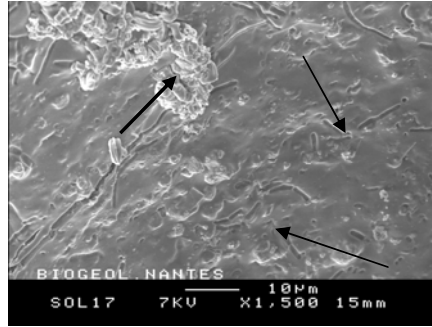


Foto 1. Micrografía que muestra el pigmento amarillo ocre con la espora del hongo *Mycelium* pero sin desarrollo. Se denomina *Cladosporium*.

Foto 2. Pigmento amarillo ocre (0'075g / 15g de mortero). Observación de *Bacillus Cereus* y *Bacillus Pumilus* en el biocalcín.

6.4. Ensayo n ° 2

Se realizó un segundo ensayo pero utilizando *Bacteria liofilizada* y distintas clases de pigmentos. Para este experimento se utilizaron dos tipos distintos de moldes. Un molde con distintos tipos de caras y otro molde con monedas de 500 pesetas (caras y escudos).

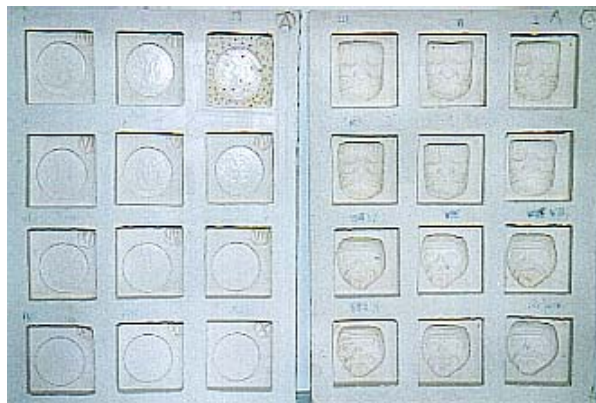


Fig. 52. Moldes de monedas y copias de efigies indígenas.

Tabla n ° 56: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (Novelda) y producto adicional (gel de sílice) para realizar el mortero sin pigmentos.

Se integraron 15 gr de mortero por molde más el pigmento que correspondiente.

	Bacteria revivificada	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (Novelda)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
360 gr de mortero sin pigmentos	90 gr	90 ml: 7 ml utilizados	90 gr de 45 µm + 90 gr = 180 gr	1,8 gr	360 gr

Tabla N ° 57: Moldes A y B donde se han realizado los experimentos con la integración de pigmentos. Se tratan de moldes de efigies y monedas realizados en silicona.

MOLDE A: Efigies indígenas

Siena oscuro	MUESTRA A1	0'08 gr
	MUESTRA A2	0'30 gr
	MUESTRA A3	0'50 gr
	MUESTRA A4	0'75 gr
Sombra tostada	MUESTRA A7	0'08 gr
	MUESTRA A8	0'30 gr
	MUESTRA A9	0'50 gr
	MUESTRA A10	0'75 gr
Referencia sin pigmento		

MOLDE B: Monedas

Rojo indio	MUESTRA B1	0'008 gr
	MUESTRA B2	0'030 gr
	MUESTRA B3	0'050 gr
	MUESTRA B4	0'075 gr
*Blanco de España	MUESTRA B5	0'48 gr
	MUESTRA B6	1'8 gr
	MUESTRA B7	3 gr
	MUESTRA B8	4'5 gr
Referencia sin pigmento		

*El Blanco de España corresponde en Francia, al **Blanco de Meudón**⁵¹.

Una vez realizada la inclusión del mortero con su correspondiente pigmento en cada molde, se introdujeron estos en la incubadora durante siete días a 24° C.

6. 4. 1. Aplicación de la Biomineralización

Pasados los siete días, se extrajeron las reproducciones de los moldes de las monedas y las caras y se colocaron en Cajas de Petri con su correspondiente papel Joseph. El precultivo se introdujo en la biomasa 24 horas antes para poder proceder a la aplicación de la **Biomineralización**.

Tabla n ° 58: Cantidad de **Bacteria** (*producción Bacteriana*) y **Nutrical n ° 7** que necesitamos para aplicar que necesitamos para aplicar en los moldes del **ensayo n ° 2**.

Biomasa (producción bacteriana)	Nutrical n ° 7
10 ml precultivo	1000 ml
1 ml precultivo	100 ml

⁵¹ **Blanco de Meudón.** Esta sustancia es el carbonato de calcio, o bien el producto resultante de combinar el ácido carbónico con la cal. Es un color blanco bastante sólido y no venenoso; sirve para la pintura al temple; entra en la combinación de diversos colores mezclados y se emplea especialmente para preparar masillas antiguamente. Por lo común contiene óxido de hierro, que lo colorea en amarillo. Para darle en éste caso un blanco uro, se mezcla con un color totalmente estable, por ejemplo, el azul ultramar.

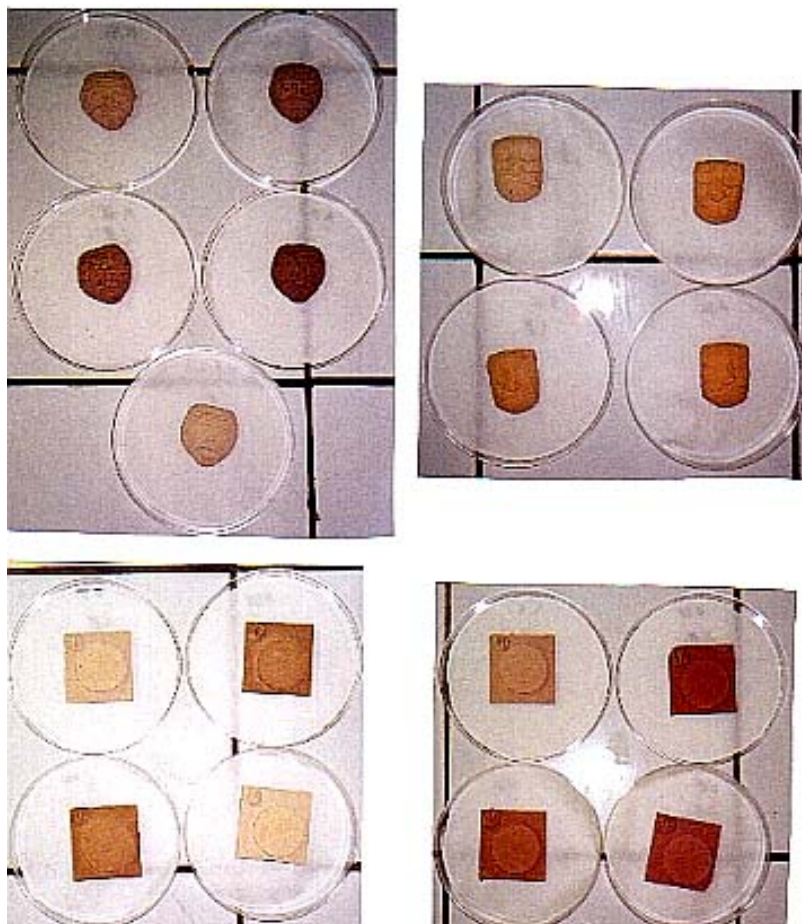


Fig. 53. Reproducciones de **efigies indígenas** y **monedas**, en proceso de **Biomineralización**.

Tabla n ° 59: Compuestos y cantidades para la aplicación de la **Biomineralización**.

Ahora para la **Biomineralización** utilizamos **Nutrical n ° 7** y **Benlate** como funguicida: **0'1g / l**, en este caso ya ha comprobado que sólo necesitan 50 ml.

	Nutrical n ° 7	Biomasa (Producción bacteriana)	Benlate
1^{er} día	100 ml	1 ml de precultivo	0'005 gr
2^o día	50 ml		0'005 gr
3^{er} día	50 ml		0'005 gr
4^o día	50 ml		0'005 gr
5^o día	50 ml		0'005 gr

Se realiza la **Biomíneralización** durante cinco días aplicando la bacteria el primer día, y los cuatro días siguientes se aplica simplemente el medio nutritivo para su alimentación y un funguicida (**Benlate**) para evitar la aparición de hongos.

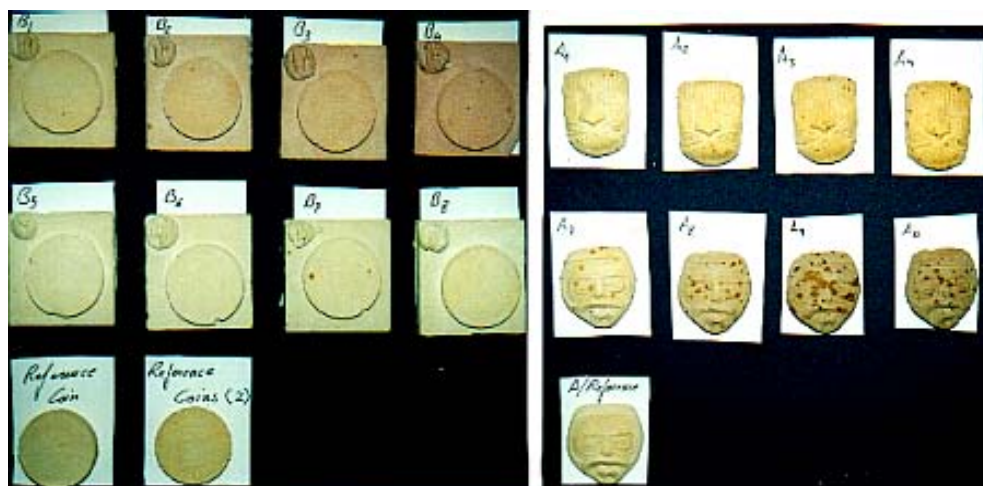


Fig. 54. Reproducciones de '*efigies indígenas*' y '*monedas*' (caras y escudos), ya finalizado el proceso de **Biomíneralización**.

6. 4. 2. Resultados y comentarios

Tras el secado de las reproducciones, macroscópicamente se pudieron observar absolutamente todos los detalles tanto de las caras como de las monedas. Eran una copia absoluta del original. En estos casos se pretendía obtener un facsímil en el sentido preciso de la palabra pero una copia sin valor del original.

Se puede manifestar que aunque se trata de un trabajo muy laborioso, por el contrario el mortero es de un manejo muy sencillo. Ahora bien, siempre hay que tener sumo cuidado al integrar todos los componentes.

6.5.1. ENSAYO N ° 3

Se va a realizar un nuevo ensayo con los moldes de dos monedas (moldes VI y VII) y otro experimento con el molde del 'Amonites' pequeño pero con *Bacteria liofilizada*.

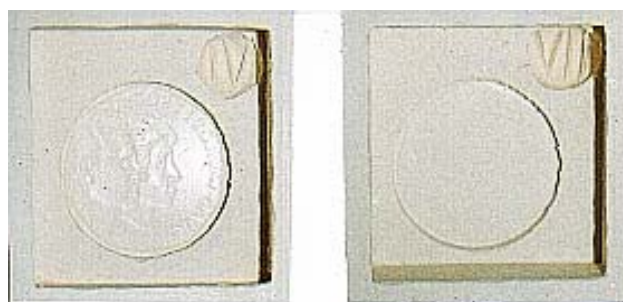


Fig. 55 . Moldes de cara y escudo de moneda de 500 pesetas, realizadas en Silastic RTV - 3481.

Tabla N ° 60: Cantidades de *Bacteria liofilizada* ("Bacillus Céreus") para hacer 21 gr de mortero con *Bacteria revivificada*.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 7	Tiempo de incubación
21 gr de mortero	3'36 gr	17,6 ml	12 – 17 h

Tabla n ° 61: : Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 7. , polvo de piedra (Novelda) y producto adicional (gel de sílice) para realizar el mortero.

	Bacteria revivificada	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (Novelda)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
75 gr de mortero	21gr	1'6 ml	28 gr de 45 µm	0'42 gr	360 gr

Sólo había mortero para poder realizar el molde de las **dos monedas (moldes VI y VII)**. Se mezclaron todos los productos y como siempre se añadió el gel de sílice al

final. Posteriormente se introdujeron los moldes en la incubadora durante seis días a 24° C.

6. 5. 2. Realización del molde de amonites pequeño con bacteria liofilizada

Para la realización de este experimento hay que especificar que se decidió cambiar las proporciones de la mezcla pero sólo para la **revivificación de la bacteria**. Se incrementó la cantidad de *Bacteria liofilizada* y se redujo la cantidad de **Nutrical n ° 7** para así obtener una mezcla más compacta.

Tabla n ° 62: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para hacer 100 gr de mortero con *Bacteria revivificada*.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 7	Peso total	Tiempo de incubación
100 gr de mortero	5'0 gr	20'0 ml	25 gr	12 – 17 h

Tabla n ° 63: : Cantidades de *Bacteria revivificada*, **Nutrical n ° 7**, **polvo de piedra (Novelda)** y **producto adicional (gel de sílice)** para realizar el mortero.

	Bacteria revivificada	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (Novelda)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
100gr de mortero	25 gr	25 ml	50 gr de 45 µm	0'50 gr	100 gr

Estas cantidades variaron considerablemente al realizar el mortero, debido a que hay que incrementar la cantidad de polvo de piedra o reducir la cantidad de agua, en función de cómo queramos que quede de espesa la mezcla.

De esta manera las cantidades finales fueron:

Tabla n ° 64: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (Novelda) y producto adicional (gel de sílice) para realizar el mortero.

	Bacteria revivificada	Nutrical N ° 7	Polvo de piedra (Novelda)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
100gr de mortero	25 gr	10 ml	75 gr de 45 µm	0'50 gr	110'5 gr

Tabla n ° 65: El Nutrical n ° 7, se realizó en el momento de la mezcla.

H₂ O	1000 ml	*25 ml
Peptona	48 gr	1'2 gr
Extracto de levadura	48 gr	1'2 gr
Ca Cl₂	8 gr	0'2 gr
K NO₃	4 gr	0'1 gr
Actical	20 ml	0'5 ml

* Al final sólo se añadió a la mezcla 10 ml de agua destilada aumentando el pH a 7'5.

Tabla n ° 66: Las cantidades finales del mortero quedan reflejadas en la siguiente tabla:

Bacteria revivificada	25 gr
Nutrical n ° 7	10 ml
Polvo de piedra (Novelda)	75 gr de 45 µm
Producto adicional (Gel de sílice)	0'50 gr
1ª Cara del molde	30 gr utilizados de los 75 gr del polvo de piedra
Colores integrados Siena oscuro Sombra tostada	0'90 gr 0'60 gr
2ª Cara del molde	15 gr utilizados de los 75 gr del polvo de piedra
Colores integrados Siena oscuro Sombra tostada	0'45 gr 0'30 gr
Peso total de mortero	113'7 gr

Una vez mezclados los componentes y siempre teniendo en cuenta que el **gel de sílice** debe añadirse al final de toda la mezcla, para mantener el pH a 7'5, se pasó a

realizar los dos moldes del 'Amonites' pequeño. Para el primero se utilizaron 30gr de mortero y para el segundo 15 gr, más los pigmentos que indica la tabla.

Se puede observar que la cantidad máxima que se puede utilizar de **Nutrical n ° 7** es de 25 ml pero esta medida depende de la textura que queramos obtener. Así en la **tabla N ° 27** se puede observar que sólo se han utilizado 10 ml, obteniéndose una mezcla idónea para realizar el molde, ya que normalmente si se añade la cantidad real, se obtiene una mezcla demasiado fluida. Aún así, hay que tener en cuenta que la mezcla real es muy eficiente para poder inyectarla en zonas donde existan pulvurulencias, bolsas, así como descascarillamientos de la piedra. Esta mezcla tan fluida, penetra tanto en grietas como en desconchamientos rellenándolos de forma efectiva y pudiéndose adherir bolsas que puedan haber en estas. Esto se podrá observar en otro experimento realizado con piezas de pintura mural.

Los moldes se introdujeron en la incubadora y se dejaron secar durante cinco días a una temperatura de 24° C. Posteriormente se extrajeron del molde tanto el amonites pequeño así como las monedas realizadas con el *Bacillus Céreus* (***Bacteria liofilizada.***). Se colocaron en placas de Petri con papel Joseph (papel absorbente) para aplicar la **Biomineralización** y crear sobre ellos una capa de “**biocalcín**” y conseguir una estructura más fuerte exteriormente.



Fig. 56. Reproducción de 'Amonites' pequeño realizada con *Bacteria liofilizada*.

6. 5. 3. Aplicación de la Biomineralización

Tabla n ° 67: Compuestos y cantidades para la aplicación de la **Biomineralización**. En este caso tenemos **Biomasa** suficiente para aplicar a los moldes, en vez de *Bacteria liofilizada*. Ahora para la **Biomineralización** utilizamos **Nutrical n ° 7** y **Benlate** como funguicida: **0'1gr / l** , en este caso ya ha comprobado que sólo necesitamos **25 ml**.

	Nutrical n ° 7	*Biomasa (Producción bacteriana)	Benlate
1^{er} día	100 ml	1 ml de precultivo	
2^o día	25 ml		0'0025 gr
3^{er} día	25 ml		0'0025 gr
4^o día	25 ml		0'0025 gr
5^o día	25 ml		0'0025 gr

Una vez realizada la **Biomineralización**, se dejaron secar las piezas en las condiciones normales del laboratorio.

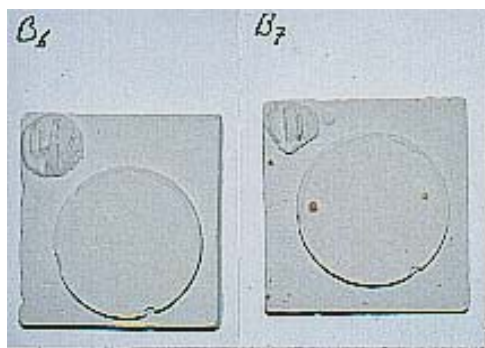


Fig. 57. Reproducción de la cara y escudo de una *moneda* de 500 pesetas.



Fig. 58. Reproducción de un “*Amonites*” pequeño realizado con *bacteria liofilizada*.

6. 5. 4. Resultados y comentarios

Tanto los ensayos de las monedas como el del ‘*Amonites*’ pequeño presentaban un buen aspecto. No se observó ninguna grieta ni ningún otro tipo de inconveniente con respecto al original. Cromáticamente el amonites aparecía muy oscuro pero esto era debido a las proporciones del pigmento (**Sombra tostada**) que se utilizó.

6. 6. Ensayo n ° 4

Se pasó realizar un nuevo ensayo con el molde de un ‘*buda*’. Para este experimento se va a utilizar *Crema bacteriana*.



Fig. 59. Molde de figura de ‘*buda*’ realizado en Silastic RTV – 3481.

Tabla n ° 68: Cantidades de *Crema Bacteriana*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (*Novelda*) y como productos adicionales: **Gel de sílice** y **gasas** para preparar el mortero sin pigmentos.

Crema bacteriana	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (<i>Novelda</i>)	Producto adicional (Gel de sílice)	Peso total
50 gr	*50 ml	100 gr de 45 µm	1 gr	207,4 gr

* Se utilizará un máximo de 50 ml de agua destilada con un pH de 7'5. Es importante que en un primer momento sólo se añadan 25 ml de agua destilada con un pH de 7'5, así se debe tener en cuenta que el mortero tendría un peso total de 182'4 gr.

Tabla n ° 69: El **Nutrical n ° 7** de este experimento, se realizó en el momento de la mezcla de todos los componentes.

H₂ O	50 ml
Peptona	2'4 gr
Extracto de levadura	2'4 gr
Ca Cl₂	0'4 gr
K NO₃	0'2 gr
Actical	10 gr

Estas cantidades de mortero son suficientes para poner una primer estrato en las dos caras del molde. Se puso un primer estrato en cada una de las caras del molde y a continuación para crear una estructura interior más fuerte, se colocaron pequeñas piezas de gasa. Se introdujo el molde en la incubadora a 24° C.

6. 6. 1. Resultados y comentarios

Pasadas 24 horas, se pudo observar que el mortero realizado con la *Crema bacteriana*, era eficaz pero el problema consistía en que el estrato empleado era

demasiado fino y las gasas propiciaban el craquelamiento de dicho estrato, absorbiendo todo el mortero nutritivo.



Fig. 60. Reproducción del 'buda' resquebrajado y cuarteado.

Por tanto, se decidió realizar el molde del buda con *Bacteria liofilizada* (molde A) y *Crema bacteriana* (molde B) pero con una cantidad cuatro veces mayor que la utilizada en este ensayo.

Hay que aclarar que para la realización de todos estos ensayos se debía hacer la revivificación de la bacteria, así como las mezclas, pensando en utilizarlas en unos ensayos y en otros a la vez, ya que se trata de mezclas muy específicas y delicadas y hay que aprovecharlas al máximo.

6. 6. 2. Observación mediante MEB (Microscopía electrónica de barrido)

Introducción

Aunque el mortero del '*buda*' había quedado deshecho, se decidió realizar pruebas de MEB (Microscopía Electrónica de Barrido) para observar si el mortero estaba en buenas condiciones.

Dicho mortero se había realizado con *Crema bacteriana (biomasa)* pero se deshizo debido a que la capa que se aplicó era demasiado fina y las gasa que se colocaron sobre éste absorbieron rápidamente el **medio nutritivo**.

Aún así, se creyó conveniente realizar éstas microscopias debido a que con ellas podíamos observar si la bacteria había realizado una **carbonato génesis** adecuada.

Mediante éstas micrografías se conseguía averiguar si la bacteria había empezado a producir biocalcín en el interior del molde.

PLANCHA 15

Foto 1

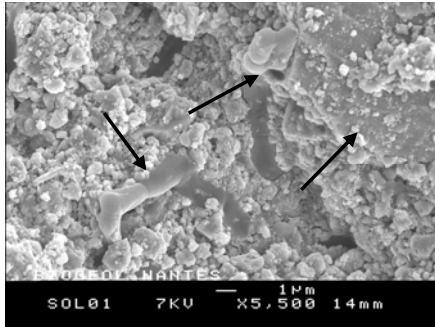


Foto 2

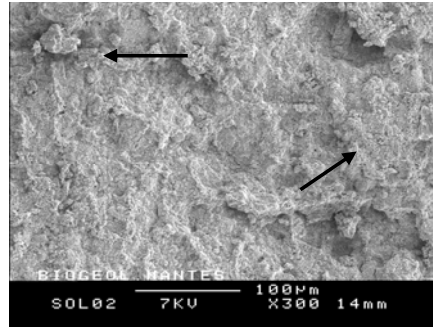


Foto 3

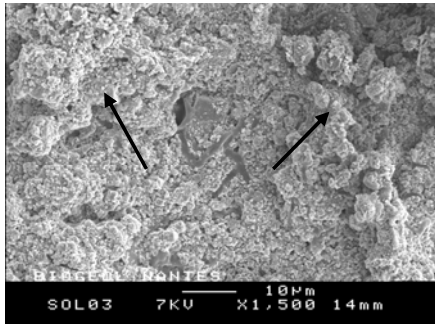


Foto 4

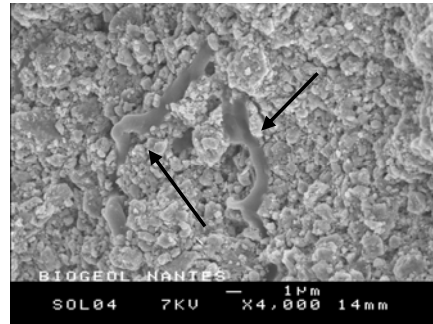


Foto 5

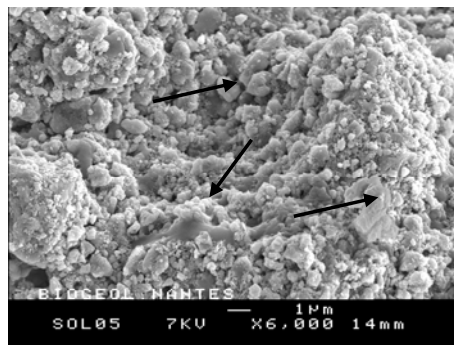


Foto 1. Superficie exterior del 'buda' realizado con una sólo capa de *Crema bacteriana*. Se puede observar el *Bacillus Cereus*.

Foto 2. Vista general que muestra una actividad homogénea del mortero.

Foto 3. Detalle de *Bacillus Cereus* todavía sin calcificar pero con una buena cohesión.

Foto 4. Micrografía que muestra igualmente una buena cohesión del mortero.

Foto 5. Muestra de *Bacillus Cereus* y cristales de calcita en proceso de cohesión.

Foto 6

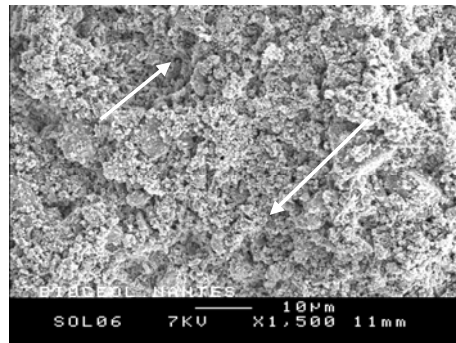


Foto 6. Interior del mortero del '*buda*'. Presenta una menor cohesión que el de la superficie.

6.7. Ensayo n ° 5

Antes de seguir con el ensayo del molde del buda, ya se tenía preparada la *Bacteria liofilizada* para proceder a la realización de la **cara A** del molde de un realizó con Silastic RTV - 3481⁵².



Fig. 61. Molde, registros y '*Amonites*' grande original.

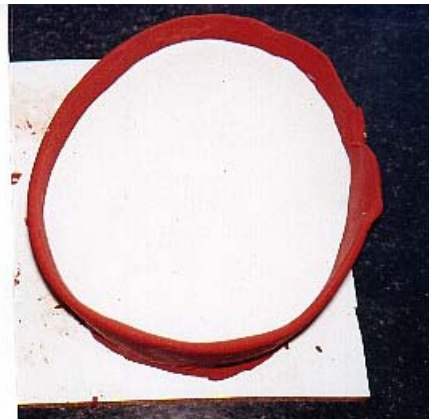


Fig. 62. El mismo molde ya con silicona en su interior.

⁵² Silastic RTV – 3481 y agente de curado S – 81, 5% S /RTV – 3481. FEROCAL. PRODUCTOS INDUSTRIALES. C / España 11, 28010 MADRID.



Fig. 63. Molde del 'Amonites' grande original, realizado en **Silastic RTV – 3481**.

6. 7. 1. Realización del mortero

En un primer momento se pensaba realizar **50 g de mortero** pero posteriormente, se realizaron 100 g por que al calcular las proporciones del molde se observó que no iba haber suficiente mortero.

Tabla n ° 70: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para hacer 100 gr de mortero con *Bacteria revivificada*.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 7	Peso total	Tiempo de incubación
100 gr de mortero	4'8 gr	25'2 ml	30 gr	12 – 17 H

Se pesaron los componentes en la balanza de precisión, se mezclaron y se pusieron en la incubadora, desde las 16'30 horas hasta las 9'30 horas del día siguiente (17 horas en total).

Al día siguiente, se procedió a la mezcla de todos los componentes, teniendo en cuenta que el **gel de sílice** había que agregarlo después del agua destilada, con un pH de 7'5 y por último los pigmentos.

Tabla N ° 71: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical ° 7, polvo de piedra (Novelda) producto adicional (gel de sílice) y pigmentos para realizar el mortero.

Bacteria revivificada	30 gr
Polvo de piedra (Novelda)	60 gr
<u>NUTRICAL N ° 7</u>	
Peptona	1'2 gr
Extracto de levadura	1'2 gr
Ca Cl ₂	0'2 gr
K NO ₃	0'1 gr
Actical	0'5 ml
H₂ O	25 ml pero sólo se utilizaron 5 ml
Gel de sílice	0'6 gr
<u>PIGMENTOS</u>	
Siena oscuro	2'5 gr
Sombra tostada	1 gr
Peso total	101'1 gr

Una vez realizada la mezcla de todos los componentes, se añadieron los pigmentos convenientes para adquirir el color del amonites original. Para esto tenemos las muestras de la **tabla n ° 14**⁵³.

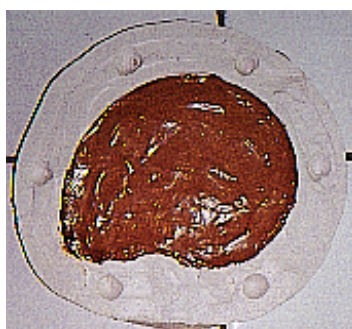


Fig. 64. Mortero realizado con *Bacteria liofilizada*.

⁵³ Ver tabla n ° 14 , p. 52

Por último, se asentó la mezcla en la **cara A**, colmándolo hasta el borde y dejándolo secar en las condiciones ambientales del laboratorio. Posteriormente se realizó la **cara B** (ensayo n °) y una vez secos los dos morteros, se extrajeron de sus correspondientes moldes y se procedió a la aplicación de la **Biomineralización**. Finalizando este proceso con la adhesión de las dos caras con *Crema bacteriana*⁵⁴.

6. 7. 2. Aplicación de la Biomineralización

Pasados los ocho días, se extrajeron las reproducciones de los dos moldes del amonites grande y se colocaron en Cajas de Petri con su correspondiente papel Joseph. El precultivo se introdujo en la biomasa 24 horas antes para poder proceder a la aplicación de la **Biomineralización**.

Tabla n ° 72: Cantidad de *Bacteria (producción bacteriana)* y **Nutrical n ° 7** que necesitamos para aplicar para aplicar en los moldes del ensayo n ° 2.

Biomasa (producción bacteriana)	Nutrical n ° 7.
10 ml precultivo	1000 ml
1 ml precultivo	100 ml

Tabla n ° 73: Compuestos y cantidades para la aplicación de la **Biomineralización**.

Ahora para la **Biomineralización** utilizamos **Nutrical n ° 7** y **Benlate** como funguicida: **0'1gr / l** , en este caso ya ha comprobado que sólo necesitan 50 ml.

	Nutrical n ° 7	Biomasa (Producción bacteriana)	Benlate
1^{er} día	100 ml	1 ml de precultivo	0'005 gr
2^o día	50 ml		0'005 gr
3^{er} día	50 ml		0'005 gr
4^o día	50 ml		0'005 gr
5^o día	50 ml		0'005 gr

⁵⁴Ver fig. 39, p. 130 . Método de centrifugación y congelación para la obtención de la biomasa (*Crema bacteriana*).

Se realizó la **Biomíneralización** durante cinco días, aplicando la bacteria el primer día. Los cuatro días siguientes, se aplicó simplemente el medio nutritivo para su alimentación y un funguicida (Benlate) para evitar la aparición de hongos. Posteriormente se dejó secar en las condiciones normales del laboratorio.



CARA A
Fig. 65. Reproducción de la cara A del 'Amonites' grande, ya en proceso de **Biomíneralización**.

6. 8. Ensayo n ° 6

Este ensayo se va a realizar con el molde del **buda** pero se decidió que medio molde se haría con *Bacteria liofilizada* (cara A) y la otra parte con *Crema bacteriana* (cara B).



CARA A
Fig. 66. Molde de figura de 'buda' realizado en **Silastic RTV – 3481**.

Tabla n ° 74: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para hacer **400 g de Nutrical n ° 7** con *Bacteria revivificada*.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 7	Peso total	Tiempo de incubación
400 gr de mortero	20 gr	80 ml esterilizado	100 gr	12 – 17 H

Una vez revivificada la *bacteria*, se pasó a realizar el mortero para la **cara A** del buda. Para ello, se debían utilizar las cantidades establecidas en la tabla siguiente, pero siempre teniendo en cuenta que se empieza a realizar la mezcla del mortero, con una cantidad de **Nutrical n ° 7** mucho menor que la indicada, (más o menos 50 ml) para que dicha mezcla quede lo suficientemente espesa.

6. 8. 1. Realización del mortero

Tabla n ° 75: Cantidades de *Bacteria revivificada*, **Nutrical n ° 7**, polvo de piedra (Novelda) y producto adicional (gel de sílice) y pigmentos para realizar el mortero.

Bacteria revivificada	100 gr
Polvo de piedra (Novelda)	200 gr de 45 µm
<u>NUTRICAL N ° 7</u>	
Peptona	4'8gr
Extracto de levadura	4'8 gr
Ca Cl ₂	0'8 gr
K NO ₃	0'4 gr
Actical	2 ml
H₂ O	100 ml pero sólo se utilizaron 48 ml
Gel de sílice	2 gr
<u>PIGMENTOS</u>	
Siena oscuro	10 gr
Amarillo ocre	5 gr
Sombra tostada	5 gr
Peso total	402 gr pero sólo se utilizaron 382'8 gr

La mezcla de todos los componentes de la **tabla n ° 34** se realiza en el momento que se va a utilizar, poniendo siempre al final el agua destilada con un pH de 7'5, el **gel de sílice** para que no se produzca el efecto tampón y los pigmentos convenientes para adquirir el color del buda original. Para esto tenemos la referencia de la **tabla n ° 14: muestras A 4 y A 9**.

Una vez realizada la mezcla completa, se asentó en la **cara A**, colmándolo hasta el borde. Se introdujo en la incubadora a una temperatura de 24° C durante siete días.



CARA A

Fig. 67. Mortero realizado con *Bacteria liofilizada*

Posteriormente se realizaría la **cara B** con *Crema bacteriana* y pigmentos. A continuación, se procedería a la aplicación de la **Biomíneralización**, finalizando este proceso con la adhesión de las dos caras.

Al sobrar **19'8 gr** de la mezcla del molde del '**buda**', se decidió realizar la **cara B** del '**Amonites**' grande.

6. 9. Ensayo n ° 5 (Continuación. Ver **tabla n ° 70, p.160**)

Este ensayo se pensaba realizar posteriormente con la **cara B** del molde del '**Amonites**' grande pero al sobrar **19'8 gr**, se agregó un pigmento con el fin de igualarla con el color de la **cara A**. El pigmento integrado para la realización de la **cara B** fue **Blanco de Meudón**.

Así mismo, hubo que añadir **2 ml** de **agua destilada**. Por lo que las cantidades totales quedan reflejadas en la tabla siguiente:

6. 9. 1. Realización del mortero

Tabla n ° 76: Cantidades de mortero, pigmento y agua destilada para la realización de la **cara B** del amonites grande.

Cantidad de mortero utilizado (bacteria revivificada)	19'8 gr
PIGMENTO : Blanco de Meudón	4'5 gr
Agua destilada	2 ml
Peso total del mortero	26'3 gr

Una vez realizada la mezcla completa se asentó en la **cara B**, colmándolo hasta el borde y dejándolo secar en las condiciones ambientales del laboratorio. A continuación,

se procedería a la adhesión de las dos caras, finalizando este proceso con la aplicación de la **Biomineralización**.

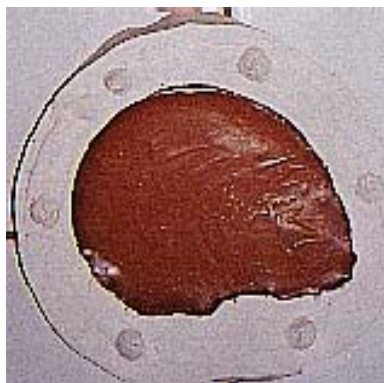


Fig. 68. Mortero realizado con *Bacteria liofilizada*.

6. 9. 2. Aplicación de la Biomineralización

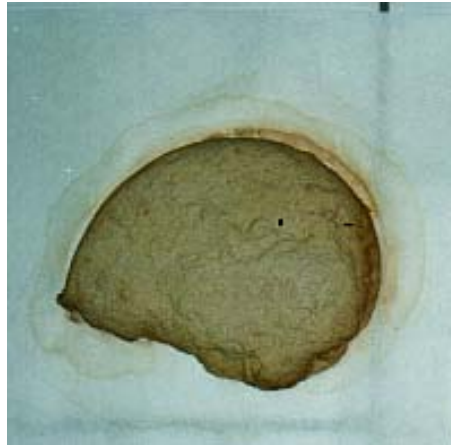
Tabla n ° 77: Compuestos y cantidades para la aplicación de la **Biomineralización**.

Ahora para la **Biomineralización** utilizamos **Nutrical n ° 7** y **Benlate** como funguicida:

0'1gr / l , en este caso ya ha comprobado que sólo necesitan 50 ml.

	Nutrical n ° 7	Biomasa (Producción bacteriana)	Benlate
1^{er} día	100 ml	1 ml de precultivo	0'005 gr
2^o día	50 ml		0'005 gr
3^{er} día	50 ml		0'005 gr
4^o día	50 ml		0'005 gr
5^o día	50 ml		0'005 gr

Se realiza la **Biomineralización** durante cinco días aplicando la bacteria el primer día, y los cuatro días siguientes se aplica simplemente el **medio nutritivo** para su alimentación y un **funguicida (Benlate)** para evitar la aparición de hongos.



CARA B

Fig. 69. Reproducción realizada con *Bacteria liofilizada*.

6. 9. 3. Adhesión de las piezas

Para la adhesión de las dos piezas del '*Amonites*' grande, se utilizó *Crema bacteriana*. En la tabla que se presenta a continuación, se utilizaron 69 gr para la adhesión de los moldes de los **ensayos n ° 5** (*Amonites*' grande), **n ° 8** (*Menelita*) y **n ° 9** (*Amonites*' pequeño). Lo que varió de uno a otro, fue la cantidad de pigmento añadido.

Tabla n ° 78: Compuestos y cantidades para la adhesión de los diferentes moldes. Cantidades de *Crema bacteriana*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (*Novelda*) y producto adicional (gel de sílice) y pigmentos para realizar el mortero.

Crema bacteriana	13 gr
Polvo de piedra (Novelda)	30 gr de 45 μ m
<u>NUTRICAL N ° 7</u>	
Peptona	0'624gr
Extracto de levadura	0'624 gr
Ca Cl ₂	0'104 gr
K NO ₃	0'52 gr
Actical	0'26 ml
H₂ O	13 ml pero sólo se utilizaron 1 ml con un pH 7'5
Gel de sílice	0'26 gr
<u>PIGMENTOS</u>	
Blanco de Meudón	22 gr
PESO TOTAL	68'42 gr – 18 gr = 50'42 gr
Peso del mortero utilizado para el <i>Amonites</i> grande	18 gr
<u>PIGMENTOS</u>	
Siena oscuro	4 gr
Amarillo ocre	1 gr
Blanco de Meudón	5'7 gr
PESO TOTAL	28'7 gr

La mezcla de todos los componentes de la **tabla n ° 41**, se realizó en el momento que se fue a utilizar, poniendo siempre al final el agua destilada con un pH de 7'5, el **gel de sílice** para que no se produzca el efecto tampón, y los pigmentos convenientes para adquirir el color del '*Amonites*' grande original. Para esto tenemos la referencia de la **tabla n ° 14**: muestras **A 4** y **A 9**.

Una vez realizada la mezcla completa, se asentó en las dos superficies del '*Amonites*' grande con una espátula y se adhirieron las dos caras de éste, realizando una ligera presión para su mejor adhesión. Se retocaron los bordes como se hace normalmente con las reproducciones y se dejó secar en las condiciones habituales del laboratorio.



Fig. 70. Adhesión de las caras A y B del 'Amonites' grande, realizado con *Crema bacteriana*.

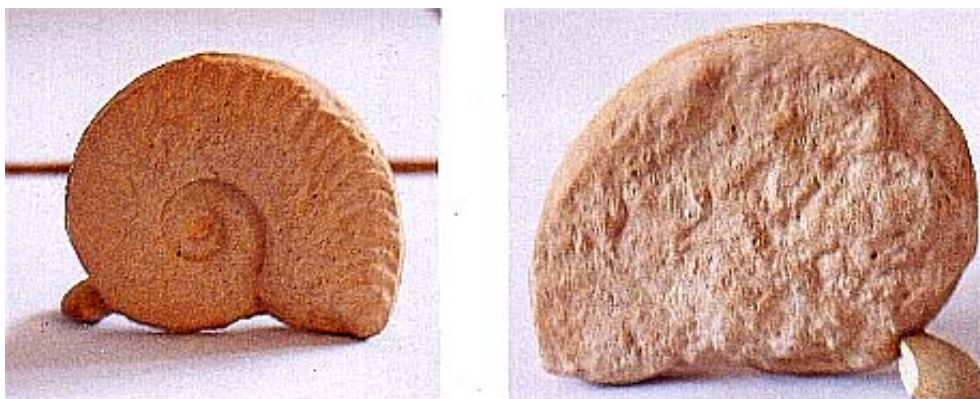


Fig.71. Reproducción final del 'Amonites' grande. Adhesión de las caras A y B.

6. 9. 4. Resultados y comentarios

Como en los últimos ensayos, la reproducción del 'Amonites' grande presentaba una superficie idéntica a la del original . Hay que especificar que la **cara B** de la reproducción cuando se dejó el molde para su secado, éste adquirió una mala posición debido a que debajo del molde había una pieza de madera. Al extraer la reproducción

del molde, fue cuando se pudo observar que éste presentaba una grieta en la superficie exterior.

Debido a ésta complicación se optó por el retoque de ésta. Al tener *Bacteria revivificada* sólo hubo que añadir **polvo de piedra (Novelda)**, el **medio nutritivo n ° 7**, el **gel de sílice** y **los mismos pigmentos** que cuando se hizo la mezcla para su reproducción. Esta pieza se retocó integrando el mortero en la grieta y posteriormente se completó su restauración redefiniendo sus detalles.

Una vez seca la pieza, no se podía apreciar donde había estado la grieta. Para concluir hay que señalar que supuso todo un logro.

6. 10. Ensayo n ° 7 (Continuación. Ver pp. 164,165. Tabla n ° 75)

Esta es la segunda parte del ensayo del molde de la **cara B** del buda, que se realizó con *Crema bacteriana*. Hay que especificar que para conseguir los micrómetros (μm) de polvo de piedra empleados en todas estas experiencias, hubo que utilizar distintas clases de tamices hasta conseguir la micrometría específica para todos estos ensayos.



CARA B

Fig. 72. Molde para la reproducción del 'buda', realizado en Silastic RTV – 3481.

6. 10. 1. Realización del mortero

Tabla n ° 79: Cantidades de *Crema Bacteriana*, Nutrical n ° 7 , polvo de piedra (Novelda), producto adicional (gel de sílice) y pigmentos para realizar el mortero.

Crema bacteriana	100 gr
Polvo de piedra (Novelda)	200 gr de 45 µm
<u>NUTRICAL N ° 7</u>	
Peptona	4'8 gr
Extracto de levadura	4'8 gr
Ca Cl₂	0'8 gr
K NO₃	0'4 gr
Actical	2 ml
Agua destilada	100 ml pero sólo se utilizaron 10 ml
Gel de sílice	2 gr
<u>PIGMENTOS</u>	
Amarillo ocre	10 gr
Sombra tostada	1 gr
Blanco de Meudón	3 gr
Peso total	338'8 gr

La mezcla de todos los componentes de la **tabla n ° 42** se realizó en el momento que se fue a utilizar, poniendo siempre al final el agua destilada con un pH de 7'5, el **gel de sílice** para que no se produzca el efecto tampón y los pigmentos convenientes para adquirir el color del buda original. Para esto tenemos la referencia de la **tabla n ° 14**. Pero en este caso, al tratarse de *Crema bacteriana* (**mortero nutritivo n ° 7**) hay que considerar que el color que intrínsecamente tiene la crema (beige claro), influye a la hora de integrar los pigmentos, ya que el color blanquecino ofrece la posibilidad de incluir menos cantidad de Blanco de Meudón o Blanco de España.

Una vez realizada la mezcla completa se asentó en la **cara B**, colmándolo hasta el borde. Se introdujo en la incubadora a una temperatura de 24° C durante siete días. A continuación, se procedería a la adhesión de las dos caras, finalizando el proceso con la aplicación de la **Biomíneralización**.



CARA B

Fig. 73. Reproducción final de la cara B del 'buda'.

- En este experimento, la mezcla de la *Crema bacteriana* aparecía con un color distinto al habitual, por lo que se decidió hacer una observación microscópica y efectivamente aparecían dos tipos de bacterias. La bacteria que se utiliza durante todo este trabajo, el “*Bacillus Céreus*” de pequeña longitud, mezclada con un “*Bacillus Pumilus*” de mayor longitud. Esto habría sido un problema, si hubiese tenido que utilizar esta mezcla para aplicar la **Biomineralización**, ya que ésta bacteria no habría dejado desarrollarse la *carbonato génesis* en su proceso normal. Pero al tratarse del mortero, no influía en el experimento.

6. 10. 2. Aplicación de la Biomineralización

Pasados los ocho días, se extrajeron las reproducciones de los dos moldes del en

grande y se colocaron en Cajas de Petri con su correspondiente papel Joseph. El precultivo se introdujo en la biomasa 24 horas antes, para poder proceder a la aplicación de la **Biomineralización**.

Tabla n ° 80: Cantidad de **Bacteria (producción Bacteriana)** y **Nutrical n ° 7** que necesitamos, para aplicar en los moldes del **ensayo n ° 2**.

Biomasa (producción bacteriana)	Nutrical n ° 7
10 ml precultivo	1000 ml
1 ml precultivo	100 ml

Tabla n ° 81: Compuestos y cantidades para la aplicación de la **Biomineralización**.

Ahora para la **Biomineralización** utilizamos **Nutrical n ° 7** y **Benlate** como funguicida: **0'1gr / l**, en este caso ya ha comprobado que sólo necesitan 50 ml.

	Nutrical n ° 7	Biomasa (Producción bacteriana)	Benlate
1^{er} día	100 ml	1 ml de precultivo	0'005 gr
2^o día	50 ml		0'005 gr
3^{er} día	50 ml		0'005 gr
4^o día	50 ml		0'005 gr
5^o día	50 ml		0'005 gr

Se realiza la **Biomineralización** durante cinco días aplicando la bacteria el primer día, y los cuatro días siguientes se aplica simplemente el medio nutritivo para su alimentación y un **funguicida (Benlate)** para evitar la aparición de hongos.

6.10.3. Adhesión de las piezas

Para la adhesión de las dos piezas del '*buda*' se utilizó **Crema bacteriana**. En la tabla que se presenta a continuación se utilizaron 53'132 gr para la adhesión del molde

de los ensayos n ° 6 y n ° 7.

Tabla n ° 82: Compuestos y cantidades para la adhesión de la reproducción del **buda**.

Cantidades de *Crema bacteriana*, *Nutrical n ° 7*, **polvo de piedra (Novelda)** y **producto adicional (gel de sílice)** y **pigmentos** para realizar el mortero.

Crema bacteriana	13 gr
Polvo de piedra (Novelda)	30 gr de 45 µm
<u>NUTRICAL N ° 7</u>	
Peptona	0'624 gr
Extracto de levadura	0'624 gr
Ca Cl₂	0'104 gr
K NO₃	0'52 gr
Actical	0'26 ml
H₂ O	13 ml pero sólo se utilizaron 1 ml con un pH 7'5
Gel de sílice	0'26 gr
<u>PIGMENTOS</u>	
Siena oscuro	5 gr
Amarillo ocre	1 gr
Sombra tostada	1 gr
PESO TOTAL	53'132 gr

La mezcla de todos los componentes de la **tabla n ° 41** se realizó en el momento que se fue a utilizar, poniendo siempre al final el agua destilada con un pH de 7'5, el **gel de sílice** para que no se produzca el efecto tampón y los pigmentos convenientes para adquirir el color del '*buda*' original. Para esto tenemos la referencia de la **tabla n ° 14: muestras A 4 y A 9**.

Una vez realizada la mezcla completa se asentó en las dos superficies del '*buda*' con una espátula y se adhirieron las dos caras de éste, realizando una ligera presión para su mejor adhesión. Se retocaron los bordes como se hace habitualmente con las reproducciones y se dejó secar en las condiciones habituales del laboratorio.



CARA B

CARA A

Fig. 74. Adhesión de la reproducción de las caras A y B del '*buda*' .



Fig. 75. Adhesión de las caras A y B del '*buda*' con *Crema bacteriana*.
Vista lateral.

6. 10. 4. Resultados y comentarios

La reproducción del '*buda*' ha sido el mayor logro de éste trabajo de investigación, ya que el tema era muy complejo, laborioso y a la vez complicado.

Esta reproducción es el mejor exponente de lo que supone realizar una replica con un material completamente nuevo en el ámbito de la restauración, es decir, en el ámbito de las Nuevas Tecnologías y en concreto en el de materiales de vaciado. Se sigue destacando que el **gel de sílice** ha sido el mayor descubrimiento para todos estos ensayos.

Se puede observar con todo detalle cada uno de los rasgos, gestos y particularidades de esta pieza, ya espléndida por sí misma en su original.



Fig. 76. '*Buda*' ya terminado y barnizado.

6.11. Ensayo n ° 8

En este ensayo, se va a realizar la reproducción del molde de una pequeña 'Menelita'. Este ensayo se realizó con *Crema bacteriana*, es decir, con **mortero nutritivo n ° 7** (N. M. 7.).



Fig. 77. Molde de una pequeña 'Menelita', realizada con Silastic RTV – 3481.

6.11.1. Realización del mortero

Para la realización de este molde se necesitaban **50 gr** de **mortero nutritivo n ° 7**.

Tabla n ° 83: Cantidades de *Crema Bacteriana*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (Novelda), producto adicional (gel de sílice) y pigmentos para realizar el mortero.

Crema bacteriana	19 gr
Polvo de piedra (Novelda)	38 gr de 45 µm
<u>NUTRICAL N °7</u>	
Peptona	0'912 gr
Extracto de levadura	0'912 gr
Ca Cl ₂	0'152 gr
K NO ₃	0'76 gr
Actical	0'38 ml
Agua destilada	19 ml pero sólo se utilizaron 9 ml
Gel de sílice	0'38 gr
<u>PIGMENTOS</u>	
Blanco de Meudón	22 gr
Peso total	*91,496 gr pero sólo se emplearon 56'496 gr

*Como el peso del mortero es de **91'496 gr** y sólo se han empleado **56'496 gr** para el molde de la '**Menelita**' pequeña , los otros **35 gr** se van a utilizar para realizar otra reproducción del '**Amonites**' pequeño pero con **mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.)**.

La mezcla de todos los componentes de la **tabla n ° 46** se realiza en el momento que se va a utilizar, poniendo siempre al final el agua destilada con un pH de 7'5, el **gel de sílice** para que no se produzca el efecto tampón y el pigmento conveniente para adquirir el color original del molde de la '**Menelita**'. Para esto tenemos la referencia de la **tabla n ° 14**. Pero en este caso, al tratarse de **Crema bacteriana (Mortero nutritivo n ° 7)** hay que considerar que el color que intrínsecamente tiene la crema (beige claro), influye a la hora de integrar el pigmento, ya que el color blanquecino ofrece la posibilidad de incluir menos cantidad de Blanco de Meudon o Blanco de España. Sin embargo, si utilizamos **Bacteria liofilizada** al tener un color siena oscuro, hay que poner más cantidad de pigmentos blancos para conseguir el color apropiado.

En el momento de realizar la mezcla, sólo se necesitó **5 ml** de **Nutrical n ° 7** en **4 ml** más. Una vez realizada la mezcla, se asentó en las dos caras del molde, colmándolas hasta el borde y dejándolas secar en las condiciones ambientales del laboratorio. A continuación, se procedería a la adhesión de las dos caras, finalizando el proceso con la aplicación de la **Biomíneralización**.



Fig. 78. Reproducción de las **caras A y B** de una '**Menelita**' pequeña.

6. 11. 2. Aplicación de la Biomineralización

Pasados los ocho días, se extrajeron las reproducciones de los dos moldes de la '*Menelita*' y se colocaron en Cajas de Petri con su correspondiente papel Joseph. El precultivo se introdujo en la biomasa 24 horas antes para poder proceder a la aplicación de la **Biomineralización**.

Tabla n ° 84: Cantidad de **Bacteria (producción Bacteriana)** y **Nutrical n ° 7** que necesitamos para aplicar en los moldes del **ensayo n ° 2**.

Biomasa (producción bacteriana)	Nutrical n ° 7
10 ml precultivo	1000 ml
1 ml precultivo	100 ml

Tabla n ° 85: Compuestos y cantidades para la aplicación de la **Biomineralización**.

Ahora para la **Biomineralización** utilizamos **Nutrical n ° 7** y **Benlate** como funguicida:

0'1gr / l, en este caso ya ha comprobado que sólo necesitan **50 ml**.

	Nutrical n ° 7	Biomasa (Producción bacteriana)	Benlate
1^{er} día	100 ml	1 ml de precultivo	0'005 gr
2^o día	50 ml		0'005 gr
3^{er} día	50 ml		0'005 gr
4^o día	50 ml		0'005 gr
5^o día	50 ml		0'005 gr

Se realiza la **Biomíneralización** durante cinco días aplicando la bacteria el primer día, y los cuatro días siguientes se aplica simplemente el **medio nutritivo** para su alimentación y un **funguicida (Benlate)** para evitar la aparición de hongos u otros microorganismos.

6.11.3. Adhesión de las piezas

Para la adhesión de las dos piezas de la '*Menelita*' pequeña, se utilizó *Crema bacteriana*. En la tabla que se presenta a continuación, se utilizaron 69 gr para la adhesión de los moldes de los **ensayos n ° 5** ('*Amonites*' grande), **n ° 8** ('*Menelita*' pequeña) y **n ° 9** ('*Amonites*' pequeño). Lo que varió de uno a otro, fue la cantidad de pigmento añadido.

Tabla n ° 86: Compuestos y cantidades para la adhesión de los diferentes moldes. Cantidades de *Crema bacteriana*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (Novelda) y producto adicional (gel de sílice) y pigmentos para realizar el mortero.

Crema bacteriana	13 gr
Polvo de piedra (Novelda)	30 gr de 45 µm
<u>NUTRICAL N ° 7</u>	
Peptona	0'624 gr
Extracto de levadura	0'624 gr
Ca Cl ₂	0'104 gr
K NO ₃	0'52 gr
Actical	0'26 ml
H₂ O	13 ml pero sólo se utilizaron 1 ml con un pH 7'5
Gel de sílice	0'26 gr
<u>PIGMENTOS</u>	
Blanco de Meudón	22 g
PESO TOTAL	68'42 gr – 18 gr = 50'42 gr 50'42 gr - 25'21 gr = 25'21 gr
Peso del mortero utilizado para el '<i>Amonites</i>' grande	18 gr
Peso del mortero utilizado para la '<i>Menelita</i>'	25'21 gr
PESO TOTAL	25'21 gr

La mezcla de todos los componentes de la **tabla n ° 41** se realizó en el momento que se fue a utilizar, poniendo siempre al final el agua destilada con un pH de 7'5, el **gel de sílice** para que no se produzca el efecto tampón y los pigmentos convenientes para adquirir el color del '*Amonites*' grande original. Para esto tenemos la referencia de la **tabla n ° 14**: muestras **A 4** y **A 9**.

Una vez realizada la mezcla completa se asentó en las dos superficies de la *Menelita* pequeña con una espátula y se adhirieron las dos caras de ésta, realizando una ligera presión para su mejor adhesión. Se retocaron los bordes como se hace habitualmente con las reproducciones y se dejó secar en las condiciones ambientales normales del laboratorio.



Fig. 79. Reproducción de la '*Menelita*' pequeña, realizada con *Crema bacteriana*.

6. 11. 4. Resultados y comentarios

La reproducción de la '*Menelita*' pequeña al igual que las últimas realizadas, reitera lo dicho en las anteriores conclusiones. El **gel de sílice** es por el momento el mejor compuesto para integrar en el mortero. Llama la atención la textura ya que la superficie muestra la tersura, gracia y sutileza del original.

6. 12. Ensayo n ° 9

En este ensayo, se va a realizar la reproducción del molde de una '*Menelita*' grande. Este ensayo se realizó con *Bacteria liofilizada* y mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.) y piedra de Novelda de 45µm



Fig. 80. Molde de silicona con '*Menelita*' original grande en su interior.

En primer lugar se debía decidir que cantidad de mortero se iba a utilizar. Se decidió que en este ensayo se incluiría exclusivamente, *Bacteria liofilizada*, mortero nutritivo n ° 7, polvo de piedra de Novelda con una granulometría de 45µm y el gel de sílice como aglutinante de éste.

6. 12. 1. Realización del mortero

Tabla n ° 87: Cantidades de *Bacteria liofilizada* para realizar el Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.) . Se hicieron 25 gr de mortero para cada capa.

	Bacteria liofilizada	Nutrical n ° 6	Tiempo
25 gr de mortero	1 gr	5,25 ml	48 H

Tabla n ° 88: Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra y producto adicional (gel de sílice) para hacer 25 gr de mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 6.) para cada cara del molde.

	Bacteria revivificada (48 H)	Nutrical n ° 7	Polvo de piedra (Novelda)	Producto adicional Gel de sílice
25 gr de mortero	6,25 gr	6,25 ml	12,5 gr → de 45 µm	*0,250 gr

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes.
2. A continuación se añadió el **polvo de piedra (Novelda)**, el **Nutrical n ° 7** poco a poco por que no todo el polvo de piedra necesita la misma cantidad de **Nutrical n ° 7** y por último el **gel de sílice**. Se debía adquirir la textura de una crema. Si queda muy líquida, se podrá añadir 1 gr más de polvo de piedra. Por cada 25 gr de mortero se añadirá 1 gr de polvo de piedra y por cada 50 gr de mortero serán 2 gr de polvo de piedra). Finalmente hubo que añadir 7,5 ml de **Nutrical n ° 7**.
3. Se asentó el mortero en el molde de la '*Menelita*' y se dejó secar en las condiciones ambientales habituales del laboratorio durante tres días.

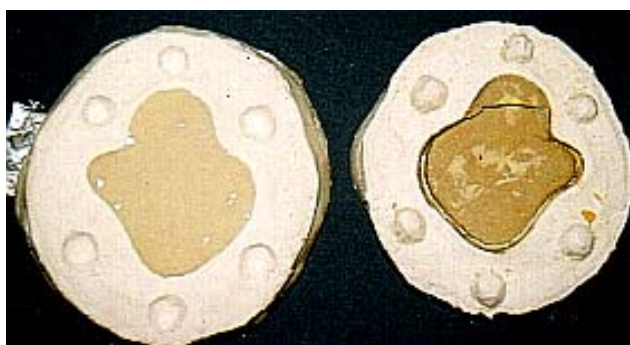


Fig. 81. Mortero de *Bacteria revivificada*, aplicado en las dos caras del molde de la '*Menelita*' grande.

6. 12. 2. Realización de la Biomineralización

Pasados los tres días, se extrajeron las reproducciones de ambos moldes. Se podía observar que una de las caras del molde se había partido. Esto no supuso ningún problema, ya que se podía adherir perfectamente con el **Mortero Nutritivo n ° 7** al mismo tiempo que se realizaba la **Biomineralización**.



Fig. 82. Cara de la '*Menelita*' fragmentada.

Tabla n ° 90: : Cantidades de *Bacteria revivificada*, Nutrical n ° 7 y polvo de piedra (*Novelda*) para adherir la pieza partida de la '*Menelita*'.

	Bacteria revivificada	Nutrical n ° 7.	Polvo de piedra <i>Novelda</i> – 45 µm	Gel de sílice
12,5 gr de mortero	3,15 gr	3,15 ml = 2,5 ml	6,25 gr	0,0625 gr

1. Se extrajo la *Bacteria revivificada* de la incubadora. Se mezcló muy bien antes de añadir los otros componentes.
2. A continuación se añadió el polvo de piedra (*Novelda*), el Nutrical n ° 7 poco a poco y finalmente se añadió el gel de sílice.

3. Antes de aplicar el mortero en las partes a adherir, se aplicó **Nutrical n ° 7** y a continuación se procedió a su adhesión.



Fig. 83. Cara de la '*Menelita*' fragmentada, ya restaurada.

Tabla n ° 89: Componentes y cantidades para preparar la **Biomineralización** y poder aplicarla 24 horas después tras haber adherido la reproducción. Siempre para preparar la **Biomineralización** se pone primero el **agua**, a continuación el **Nutrical n ° 7**, el **Actical** y por último la *Bacteria revivificada*.

BIOMINERALIZACIÓN

	N. M. 7.	Bacteria revivificada
1^{er} día	50 ml	0'05 gr
2 ° día	50 ml	
3^{er} día	50 ml	
4 ° día	50 ml	
5 ° día	50 ml	

* Se utilizan **50 ml** por que no se necesita más cantidad.

Se aplicó **Nutrical n ° 7** durante cinco días y finalmente se dejó secar. Pasados dos meses se procedió a su barnizado.



Fig. 84. 'Menelita' en proceso de **Biomineralización**.



Fig. 85. Ambas caras de la 'Menelita' grande, ya finalizada.

6.13. Ensayo n ° 10

Como se ha especificado en el **ensayo n ° 8**, al sobrar **35 gr de mortero** se decidió realizar el molde del 'Amonites' pequeño con el **Mortero nutritivo n ° 7**. Esto era posible debido a que el mortero admitió mucha cantidad de **Blanco de Meudon**. Al integrar los pigmentos **Blanco de Meudón** y **Blanco de España**⁵⁵ no se produce ninguna reacción adversa con el "*Bacillus Céreus*", ya que la composición química de

⁵⁵ Los otros pigmentos en esta fase del trabajo todavía no se habían analizado. Posteriormente durante el mes de octubre del 2000 se analizaron los pigmentos aquí utilizados, mediante M. E. B. (Microscopía electrónica de Barrido) y Espectrometría (Centro de Microscopía de la Universidad de Nantes. Francia).

estos pigmentos es de **Carbonato cálcico** (Ca CO_3) puro. En todo caso provocaría una reacción favorable, ayudando en el proceso de la *carbonato génesis*.

Se calculó la cantidad de pigmento mediante la **tabla n ° 14, molde B, muestras: B 9, B 10, B 11 y B 12**. En este caso se podía añadir hasta 10'5 gr de **Blanco de Meudón** pero como ya se había incluido anteriormente, no fue necesario añadir más cantidad.

Tan sólo hubo que verter la mezcla en la cara **A y B** del molde del '*Amonites*' pequeño. Una vez realizada esta operación, se dejó secar en las condiciones ambientales del laboratorio. Una vez extraído del molde, se procederá a su adhesión y posterior aplicación de la **Biomíneralización**.



Fig. 86. Reproducción del '*Amonites*' pequeño, preparado para aplicarle la **Biomíneralización**.

6. 13. 1. Aplicación de la Biomíneralización

Pasados los ocho días, se extrajeron las reproducciones de los dos moldes del '*Amonites*' grande y se colocaron en cajas de Petri con su correspondiente papel Joseph. El precultivo se introdujo en la **Biomasa** 24 horas antes para poder proceder a la aplicación de la **Biomíneralización**.

Tabla n ° 91: Cantidad de *Bacteria* (producción Bacteriana) y Nutrical n ° 7, que necesitamos para aplicar que necesitamos para aplicar en los moldes del ensayo n ° 2.

Biomasa (producción bacteriana)	N. M. 7.
10 ml precultivo	1000 ml
1 ml precultivo	100 ml

Tabla n ° 92: Compuestos y cantidades para la aplicación de la **Biomineralización**.
Ahora para la **Biomineralización** utilizamos **mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.)** y **Benlate** como funguicida: 0'1gr / l., en este caso ya ha comprobado que sólo necesitan 50 ml.

	N. M. 7.	Biomasa (Producción bacteriana)	Benlate
1^{er} día	100 ml	1 ml de precultivo	
2^o día	50 ml		0'005 gr
3^{er} día	50 ml		0'005 gr
4^o día	5 0ml		0'005 gr
5^o día	50 ml		0'005 gr

6.13.2. Adhesión de las piezas

Para la adhesión de las dos piezas de la '*Menelita*', se utilizó *Crema bacteriana*.
En la tabla que se presenta a continuación se utilizaron 69 g para la adhesión de los moldes de los ensayos n ° 5 (*Amonites*´ grande), n ° 8 (*Menelita*´) y n ° 9 (*Amonites*´ pequeño). Lo que varió de uno a otro, fue la cantidad de pigmento añadido.

Tabla n ° 93: Compuestos y cantidades para la adhesión de los diferentes moldes. Cantidades de *Crema bacteriana*, Nutrical n ° 7, polvo de piedra (Novelda) y producto adicional (Gel de sílice) y pigmentos para realizar el mortero.

Crema bacteriana	13 gr
Polvo de piedra (Novelda)	30 gr de 45 µm
<u>NUTRICAL N ° 7</u>	
Peptona	0'624 gr
Extracto de levadura	0'624 gr
Ca Cl₂	0'104 gr
K NO₃	0'52 gr
Actical	0'26 ml
H₂ O	13 ml pero sólo se utilizaron 1 ml con un pH 7'5
Gel de sílice	0'26 gr
<u>PIGMENTOS</u>	
Blanco de Meudón	22 gr
PESO TOTAL	68'42 gr – 18 gr = 50'42 gr 50'42 gr - 25'21 gr = 25'21 gr 25'21 gr – 25'21 gr = 0 gr
Peso del mortero utilizado para el <i>Amonites</i> grande	18 gr
Peso del mortero utilizado para la <i>Menelita</i>	25'21 gr
Peso del mortero utilizado para el <i>Amonites</i> pequeño	25'21 gr
PESO TOTAL	25'21 gr

La mezcla de todos los componentes de la tabla n ° 41 se realizó en el momento que se fue a utilizar, poniendo siempre al final el agua destilada con un pH de 7'5, el **gel de sílice** para que no se produzca el efecto tampón y los pigmentos convenientes para adquirir el color del '*Amonites*' pequeño original. Para esto tenemos la referencia de la **tabla n ° 14:** muestras A 4 y A 9.

Una vez realizada la mezcla completa, se asentó en las dos superficies del '*Amonites*' pequeño con una espátula y se adhirieron las dos caras de éste, realizando una ligera presión para su mejor adhesión. Se retocaron los bordes como se hace

normalmente con las reproducciones y se dejó secar en las condiciones habituales del laboratorio.



Fig. 87 . Reproducción del 'Amonites' pequeño, realizado con *Crema bacteriana*.

6. 13. 3. Resultados y comentarios

Dadas las características del original ya que posee muchos surcos, hembrincaduras y muescas, la reproducción llama la atención por su propio color y por la calidad del detalle.

Hay que puntualizar que esta replica se realizó exclusivamente con *Crema bacteriana*, hecho que da lugar a advertir y reflexionar sobre la importancia del mortero realizado con *Biomasa (producción bacteriana)*. El manejo es mucho más fácil en condiciones de laboratorio y mucho más eficaz para poder obtener el color original de la reproducción.

Ahora bien, se debe seguir teniendo en cuenta como el **gel de sílice** afecta a cada uno de los ensayos realizados. En éste procedimiento, se ha podido observar que existe una mínima retracción con respecto al original.

Capítulo 7 : Anexos

CAPITULO 7

ANEXO I

Ensayos sobre pintura mural

1. Introducción

En este anexo se realizaron diversos ensayos con fragmentos de Pintura Mural, cedidos por la Dra. Escohotado⁵⁶ de su aula de dicha especialidad.

Se realizaron cuatro tipo de ensayos que consistían en la adhesión de dichos fragmentos, sobre distintos tipos de piedra con *Crema bacteriana (Mortero bacteriano)* y posteriormente se aplicó **Biomineralización**.

Los ensayos realizados fueron:

- A. Adhesión de un fragmento de pintura mural sobre piedra artificial.
- B. Adhesión de un fragmento resquebrajado y posterior adhesión sobre piedra artificial.
- C. Adhesión de un fragmento de pintura mural sobre piedra de Tuffeau.
- D. Adhesión de un fragmento de pintura mural sobre piedra de St. Vast.

1. 2. Obtención de la biomasa

Lo primero que se realizó fue el cultivo de la **Bacteria** en el *Medio de la Biomasa* compuesto de:

Tabla n ° 94: Composición y cantidades para realizar el *Medio de la Biomasa*.⁵⁷

H₂O (agua destilada o mineral)	1000 ml
Peptona	8 gr
Extracto de levadura	8 gr
KNO₃	4 gr
Sal marina	7 gr
pH	7'5

Vamos a realizar **6 litros** utilizando dos botellas de **3 litros** cada una.

Tabla n ° 95 : Composición y cantidades para realizar **3 litros** del *Medio de la Biomasa*.

H₂O (agua destilada o mineral)	3000 ml
Peptona	24 gr
Extracto de levadura	24 gr
KNO₃	12 gr
Sal marina	21 gr
pH	7'5

* La esterilización se realiza a 111° C durante 35 minutos.

Una vez realizado el *Medio de la Biomasa* se procede a incluir la **Bacteria** (*Bacillus Cereus*) en éste y se deja durante **48 horas** para su crecimiento. Posteriormente se centrifuga y se obtiene la *Crema bacteriana*.

A continuación se realizó el **Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.)** para proceder a la adhesión de los fragmentos de **pintura mural**.

⁵⁶ Dra. Dña. Teresa Escotado. Profesora titular del Departamento de Pintura – Restauración de la Facultad de Bellas Artes de la Universidad Complutense de Madrid.

⁵⁷ Ver fig. , p.

Tabla n ° 96: Compuestos y cantidades para la adhesión de los diferentes fragmentos de Pintura Mural. Cantidades de *Crema bacteriana*, **Nutrical n ° 7.**, **polvo de piedra (Novelda)** y **producto adicional (gel de sílice)** para realizar el *Mortero bacteriano*.

Crema bacteriana	10 gr
Polvo de piedra (Courville)	20 gr entre 125µm y 45 µm
<u>NUTRICAL N ° 7</u>	
Peptona	0'36 gr
Extracto de levadura	0'36 gr
Ca Cl₂	0'04 gr
K NO₃	0'04 gr
Actical	0'15 ml
H₂ O (destilada)	10 ml pero sólo se utilizaron 4 ml con un pH 7'5
Gel de sílice	0'2 gr
PESO TOTAL	

La mezcla de todos los componentes de la **tabla n ° 96** se realizó en el momento que se fue a utilizar, añadiendo posteriormente el agua destilada con un pH de 7'5 y por último el **gel de sílice**, para que no se produjese el efecto tampón.

Antes de proceder a la adhesión de los diferentes fragmentos, se aplicó previamente **Nutrical n ° 7** sobre los tres tipos de piedras a los que se iban a adherir la Pintura Mural: *piedra artificial, piedra de Tuffeau y piedra de St. Vast*. EL **Nutrical n ° 7** se aplicó previamente con un pincel del n ° 7.

El procedimiento utilizado fue el mismo para los cuatro ensayos.

1. 3. Adhesión de los fragmentos de pintura mural

Los ensayos realizados fueron:

A. Adhesión de un fragmento de pintura mural sobre piedra artificial



Fig. 88. Pieza de **pintura mural** adherida a una **piedra artificial**.



Fig. 89. Detalle de la adhesión de una **pieza de pintura mural**, a una **piedra artificial**.

B. Adhesión de un fragmento de pintura mural partido y posterior adhesión sobre piedra artificial

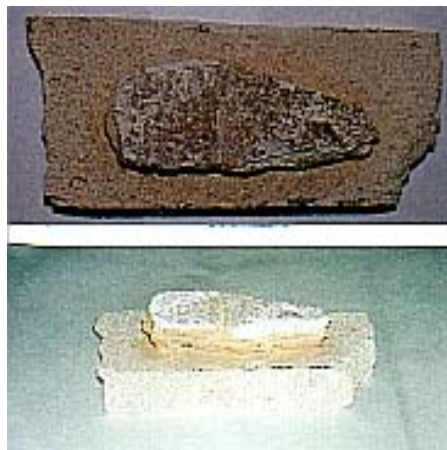


Fig. 90. Adhesión de pieza de **pintura mural** rajada y posteriormente asentada a una piedra artificial.

C. Adhesión de un fragmento de pintura mural sobre piedra de Tuffeau

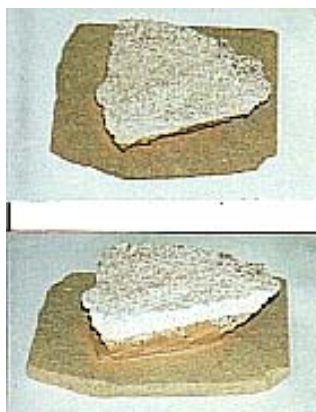


Fig. 91. Pieza de **pintura mural** adherida a piedra de 'Tuffeau'.

D. Adhesión de un fragmento de pintura mural sobre piedra de St. Vast



Fig. 92. Adhesión de pieza de **pintura mural**, sobre una piedra de **St. Vast**.

En los cuatro ensayos se realizó el mismo procedimiento: se aplicó previamente el **Nutrical n ° 7**, a continuación se colocaron dos **espigas pequeñas de titanio** (en los ensayos A y n ° C), el **Mortero bacteriano** y se adhirieron las pinturas murales a las diferentes piedras, realizando una mínima presión para su buena adhesión. Por último se volvió a aplicar **Nutrical n ° 7** con un pincel del n ° 7 sobre los bordes del **Mortero bacteriano** y se dejó secar en las condiciones normales del laboratorio.

1. 4. Aplicación de la Biomineralización

Se dejó secar durante siete días y se procedió a la aplicación de la **Biomineralización**.

Tabla n ° 97: Compuestos y cantidades para la aplicación de la **Biomineralización**.

Ahora para la **Biomineralización** utilizamos **Nutrical n ° 7** y en este caso ya se comprobó que sólo necesitaban 50 ml por día.

H₂O (agua destilada o mineral)	1000 ml	250 ml
Peptona	48 gr	2 gr
Extracto de levadura	48 gr	2 gr
CaCl₂	8 gr	1 gr
KNO₃	4 gr	0'5 gr
Actical	20 ml	3'7 ml

Tabla n ° 98: Cantidades de **Nutrical n ° 7** para aplicar la **Biomineralización** durante cinco días.

BIOMINERALIZACIÓN

	N. M. 7.	Bacteria revivificada
1^{er} día	50 ml	0'05 gr
2^o día	50 ml	
3^{er} día	50 ml	
4^o día	50 ml	
5^o día	50 ml	



Fig. 93. Piezas de **pintura mural** en proceso de **Biomíneralización**.

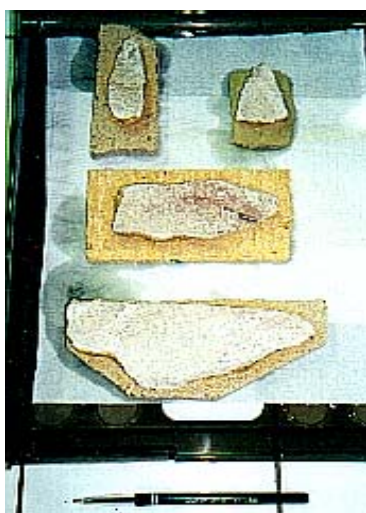


Fig. 94. Detalle de las piezas de **pintura mural**, una vez finalizada la **Biomíneralización**.

1. 5. Resultados y comentarios

Como se puede observar, en los ensayos anteriormente realizados se han logrado los objetivos que se tenían previstos, sobre éste tipo de procedimiento.

Por el contrario, podemos afirmar que se trata de método viable para la restauración de pintura mural mediante un método absolutamente natural y sin efectos secundarios sobre ésta.

En los **ensayos A y B** se colocaron pequeñas espigas de titanio pero no se descarta la utilización de cualquier otro sistema para la sujeción de éstas.

ANEXO II

Ensayos sobre la adhesión de distintos tipos de piedras

2. Introducción

En objetivo principal de éste anexo, consistía en conseguir la adhesión de distintos tipos de piedra . El mortero realizado mediante ***Crema bacteriana*** o ***Bacteria liofilizada***, permitiría la unión de piedras nuevas junto a piedras originales que en la mayoría de los casos, son piezas dañadas al haber estado expuestas a la intemperie sin tener que recurrir a métodos agresivos como la utilización de morteros realizados mediante resinas epoxídicas, poliésteres, etc.

Para la realización de estos ensayos se ha utilizado el mismo mortero nutritivo que había sobrado de la adhesión de las pinturas murales: **Mortero nutritivo n ° 7 (N. M . 7.) , tabla n ° 96.**

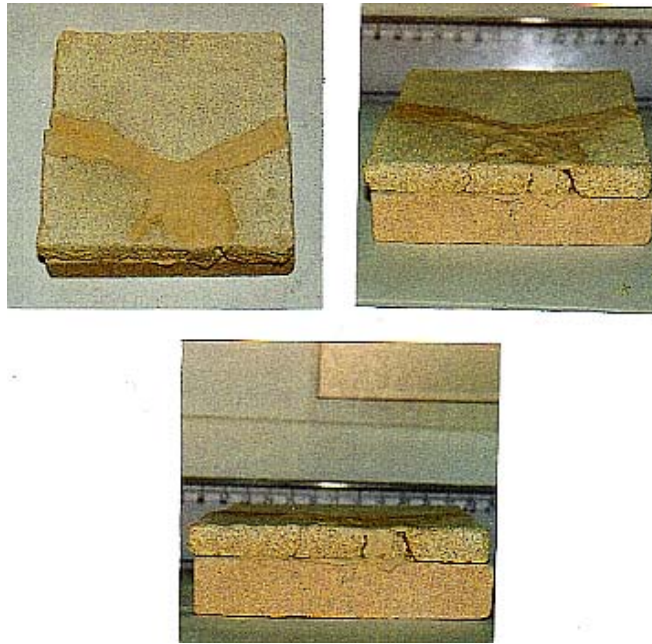


Fig. 95. Adhesión de trozos de piedras de *St. Vast* mediante el **Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.)**.



Fig. 96. Adhesión de piezas de dos piedras de *Tuffeau* y una piedra de *St. Vast*.

2. 1. Resultados y comentarios

Como se puede observar en las fotografías, las piezas que se muestran han quedado perfectamente adheridas. También se percibe visualmente que la piedra de *St. Vast* tiene una fina estructura. Esto es debido a que se trata de una caliza compuesta en su mayoría de restos conchíferos y muy porosa, es decir, que admite mucha más

cantidad de mortero y a la hora de proceder a su **Biomíneralización**, el cubrimiento de la bacteria es muy uniforme sobre la superficie.

En este ensayo no se colocó ningún tipo de espiga para su mejor sujeción y se puede observar **in situ** que las piezas aguantan el peso disponiéndolas verticalmente. También es verdad que en este caso no deben aguantar un gran volumen de peso, pero siempre podemos recurrir como en el ensayo anteriormente descrito, ha espigas de titanio para su sujeción.

ANEXO III

Mortero para relleno de oquedades

3. Introducción

En éste anexo se quería conseguir el relleno de distintas oquedades mediante el **Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.)**, no sólo para verificar que se podía estucar con éste mortero, sino para comprobar que mediante la inclusión de pigmentos se podía mantener el color de la piedra original. Se utilizó el mismo mortero que en la **tabla n ° 96** pero en este caso se tuvo que añadir 4 gramos de **blanco de Meudón**.



Fig. 97. Relleno de oquedad con **Mortero nutritivo n ° 7** (N. M. 7.) sobre piedra de *Tuffeau*.



Fig. 98. Relleno de oquedad con **Mortero nutritivo n ° 7** ya finalizada la **Biomineralización**.

3. 1. Resultados y comentarios

Es claramente evidente que si podemos realizar réplicas de diferentes figuras, no debíamos tener ningún problema a la hora de reintegrar un hueco vacío. Ahora bien, los ensayos que se habían realizado anteriormente, se desarrollaron en todo momento con morteros que a su vez se unían con otros morteros compuestos ambos de *Crema bacteriana* o *Bacteria liofilizada* y *polvo de diferentes clases de piedras*.

En éste caso se pretendía reintegrar parte del estrato que faltaba en el material de origen. Con este ensayo confirma que se abre otro gran campo de estudio, ya que no se tendrían que utilizar materiales orgánicos para la reintegración de diferentes piedras, esculturas, etc.,

Originalmente esta caliza al igual que la piedra de *Novelda*, es una caliza bacteriana. Contiene cristales de cristobalita. Tras seis días de tratamiento se ha podido observar como existía un cubrimiento uniforme de la bacteria. La colonización de cristobalita en gotitas es visible en micrografías de MEB.

ANEXO IV

Mortero para la adhesión de un fragmento de pintura mural del siglo XVII⁵⁸

4. Introducción

En éste último anexo, se quería exponer como se podía adherir y posteriormente retocar (cromáticamente) un fragmento de pintura mural mediante la aplicación del **Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.)**. Dicho fragmento pertenece a una pintura mural del S. XVII.

El **Mortero nutritivo n ° 7** se realizó como en todos los demás ensayos y se utilizó polvo de piedra de *Tuffeau* y la base a la que se adhirió fue de la misma piedra.



Fig. 99. Pintura mural del S. XVII fragmentada.

⁵⁸ Fresco del siglo XVII, cedido por D. Angel Balau de su aula de pintura mural.



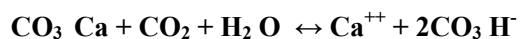
Fig. 100. Detalle de la pintura mural ya restaurada y adherida a una pieza de piedra de *Tuffeau*.



Fig. 101. Vista lateral de la pintura mural, donde se puede ver el mortero y su adhesión a la pieza de *Tuffeau*.

4. 1. Resultados y comentarios

Sabemos que el proceso de secado de una pintura mural, se trata de una reacción química de bicarbonatación: $\text{Ca (OH)}_2 + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{CO}_3 \text{ Ca} \downarrow + \text{H}_2 \text{ O}$ y



Es decir, con esto queremos explicar que la **carbonato génesis** que se produce con el *Bacillus Cereus* es perfectamente compatible con la pintura mural, potenciando la primera.

Una vez seco el mortero se puede retocar con pigmentos naturales o con acuarela dicha pintura mural.⁵⁹ En este caso se retocó con acuarela

Capítulo 8 : Conclusiones generales

CAPITULO 8

Conclusiones generales

8. Sobre el carácter de las conclusiones

Las conclusiones de las investigaciones científicas pueden referirse a nuevos conocimientos o a nuevas aplicaciones. Cuando se trata de nuevas aplicaciones, las conclusiones suelen establecer un balance entre la eficacia de los resultados y la economía del proceso. A su vez la economía del proceso se podrá valorar por la economía de materiales, de tiempo, y de facilidad técnica. Es decir, se valora la “funcionalidad” del sistema propuesto.

Pero cuando la investigación científica se refiere al ámbito del arte, la valoración por su “funcionalidad” debe ser correctamente planteada, ya que las definiciones más aceptadas de arte implican la creación de objetos sin “funcionalidad práctica”.

En los primeros capítulos se comentó el punto de partida considerando el fenómeno arte como la inmersión en un campo informativo perceptivamente optimizado. La optimización perceptiva supone un esfuerzo del artista para conseguir que el observador, ante su obra, responda correctamente a la pregunta inevitable que se hace ¿Qué es esto?. Para obtener una respuesta correcta, el artista habrá empleado recursos visuales, formales, y conceptuales. En la plástica actual los recursos conceptuales han incrementado notablemente la sensibilidad de los observadores. No basta con lo que se ve de la obra, sino que se acude a lo que se “sabe” de ella. No basta

⁵⁹ Colina Botello, M., *“Incidencia del soporte en la pintura mural y sus manipulaciones técnicas”*, p. 174., Propiedades de los pigmentos empleados en la pintura – Madrid

que la escultura “parezca ser de roca natural”, se le exige que, si lo parece, lo sea de verdad.

Desde estas consideraciones , se subdividen las conclusiones en dos ámbitos. ámbito conceptual, y ámbito funcional.

8. 1. Ámbito conceptual

Entre los diversos modos de realizar una copia de un original, se considera el más exigente en cuanto a fidelidad, el denominado “replica”. La réplica se define como una reproducción exacta de un original. Supone un registro y reproducción de alta resolución capaz de medir y reproducir detalles submilimétricos, y además que la materia a que se traslada sea de la misma naturaleza que el original. En la actualidad estas condiciones sólo se pueden conseguir cuando la materia del original puede pasar por fases fluidas adaptables a las formas del molde, como el caso de metales, plásticos, y piedra artificial, etc.

El tema de investigación realizado, permite ampliar el conjunto de materiales capaces de producir réplicas por medio de roca natural, que desde un estado semifluido, capaz de adaptarse a las paredes del molde, se auto solidifica para conseguir la reproducción estable de las formas, de modo que además de “parecer roca natural”, se puede afirmar que lo es realmente.

8. 2. Ámbito funcional

Es en estas situaciones cuando se pone de manifiesto el papel auxiliar que pueden tener las nuevas técnicas de reproducción para conservar las piezas dañadas, puesto que la gran fidelidad conseguida con estas réplicas respecto a los originales, permite

reemplazar aquellos para preservarlos de un medio hostil que amenaza con hacerlos desaparecer en breve plazo, sin que con ello sufra el conjunto artístico y evitando así una pérdida que sería irreparable.

Finalmente, está anticipado un gran campo de investigación en el que el proceso de biomineralización no se detiene solo en la protección de la superficie. Sino que podrá ser aplicado en estatuas, en medidas de protección y también como forma posible de restauración como: consolidación, morteros biológicos compuestos de bacterias carbonatógenas y de polvos de roca, encolado, fijación, pigmentación⁶⁰ y el tema que nos ocupa, el de reproducciones de piezas compuestas de carbonato cálcico (tanto en piezas aisladas como en piezas que tengan falta de materia y que deban ser reproducidas **in situ**, debido a su ubicación u otros motivos) y tantos campos que faltan por profundizar.

Este principio de intervención minimalista, entra por consiguiente, perfectamente dentro del cuadro de la ética actual de la conservación - restauración, apuntando fundamentalmente a privilegiar antes que nada, la conservación preventiva.

Por último decir que, el uso de la **Biomineralización** debería extenderse. El precio, equivalente al de los tratamientos hidrófugos, es similar. En cuanto a las bacterias, respetarán al hombre y el medio ambiente, completamente petrificadas por obra de ambos.⁶¹

Para concluir, hay que decir que uno de los principales problemas con que nos enfrentamos en la actualidad dentro de este campo, es el tremendo deterioro que sufren

⁶⁰ Castanier, S., Orial, G., Levrel, G., Loubiere, J. F. "*Les bactéries architectes*". Oré n° 1: pp. 62. [Sept. 1996.](#)

⁶¹ [Lemarchand, Fabienne. Mundo científico. N° 160. Volumen 15, p. 779. 1995.](#)

los materiales pétreos que se hallan a la intemperie y por todos conocido: el “*mal de la piedra*”, debido al cual en pocos años se han perdido o están a punto de perderse, esculturas que llevan siglos al aire libre; sin embargo, pese a las continuas investigaciones no se habían encontrado métodos eficaces para detener “*in situ*” el proceso de destrucción por un tiempo razonablemente largo y tras lo expuesto en este trabajo, podemos tener claras expectativas de detener estos procesos, gracias a los logros conseguidos por la **Sociedad Calcite** en colaboración con los dos laboratorios que están comprometidos con este proyecto y trabajando en colaboración con el profesor **Gasser** del **Instituto Pasteur**:

- El laboratorio de microbiología de la Universidad de Nantes (**Castanier, S. y Le Metayer, G., Abelló, S.**) especializados en la **carbonato génesis**, el cual lo investiga y perfecciona, con el fin de alcanzar su desarrollo comercial.

- El laboratorio de investigación de Monumentos Históricos (**Orial, G.**) cuyo papel es, entre otras cosas, adaptar esta nueva tecnología a la conservación de monumentos históricos⁶².

Algunos técnicos recomiendan trasladar las piezas al interior o cambiar su emplazamiento por otro más favorable, cuando el proceso de deterioro está lo suficientemente avanzado como para temer la pérdida. Sin embargo, opinamos que con tal medida el conjunto histórico artístico para el que fue concebida la obra, retablo de un altar, portada de una iglesia, etc., sufriría un gravísimo daño al verse privado de estas piezas que, podríamos decir así, por legítimo derecho le pertenecen.

Es en estas situaciones cuando se pone de manifiesto el papel auxiliar que pueden tener estas nuevas técnicas para la reproducción y conservación de las piezas dañadas,

⁶² Orial, G., Castanier, S., Le Metayer, G. y Loubière, J. F. “*The Biomineralization: A New Process to Protect Calcareous Stone; Applied to Historic Monuments.*” *Biodeterioration of Cultural Property* 2, pp.

puesto que conseguiríamos una gran fidelidad con estas nuevas técnicas y para la conservación *“in situ”* de las piezas originales sin que con ello sufra el conjunto artístico y evitando así una pérdida que sería irreparable. Podemos afirmar sin reservas, que la adopción de esta solución, cumple todos los requisitos exigidos en un tratamiento de conservación⁶³. En efecto:

1. - Si fuese necesario el reemplazamiento del original por la réplica, este nos permitiría conservar la armonía y expresividad del conjunto del cual haya sido preciso rescatarlo. Esto sería posible porque no reproduciríamos tan solo la forma de los originales, sino que se conseguiría reproducir su composición original.

2. - Lo anterior da lugar a pensar que podemos caer en un cierto peligro de falsificación. Sin embargo, otra de las ventajas que conviene resaltar es que, aún en el caso de que llegaran a extraviarse los documentos acreditativos de la reproducción, nunca podrán ser confundidas la réplica y el original por un profesional, pues con un nuevo análisis se podría establecer que serían de la misma composición pero también la distinta naturaleza de los materiales de ambos.

3. - Otro de los problemas que pueden plantearse, es si el envejecimiento de las sustancias empleadas en las reproducciones, pueden ocupar el lugar de los originales un tiempo razonablemente largo. A lo que podemos aducir todo lo expuesto en este trabajo sobre la excelente resistencia y durabilidad de la biomineralización, así como el de los otros procesos expuestos.

4. - Dentro de los criterios internacionales para la conservación de obras de arte ya ha quedado expuesto, que es precisamente el laboratorio de investigación de Monumentos

98 - 99 (1993). The Proceedings of the 2nd International Conference on Biodeterioration of Cultural Property (ICBCP - 2). October 5 - 8, 1992, Yokohama, Japan.

⁶³ García Gallego, Jerónimo. “La reproducción aplicada a la conservación de obras de arte”. Proart, S.A. Ctra. De Barajas a Paracuellos, Km. 8. Paracuellos del Jarama (MADRID).

Históricos (**Orial, G.**) el que adapta entre otras cosas, esta nueva tecnología a la conservación de monumentos históricos⁶⁴.

Hay que considerar que aunque en todo momento nos hayamos referido a la reproducción de obras de arte cara a su conservación, puesto que creemos que es el aspecto más importante a tener en cuenta en nuestro trabajo, se abren, como también se ha expuesto anteriormente, otras muchas posibilidades de aplicación muy interesantes, entre las que podríamos citar las siguientes:

A) Exposiciones Internacionales, sin que por ello sufran los originales riesgos de transportes y continuos cambios de ambiente.

B) Posibilidad de difundir la cultura artística y el conocimiento de las piezas fundamentales de nuestro patrimonio, mediante exposiciones itinerantes.

C) Finalmente, está anticipado un gran campo de investigación en el que los procesos aquí expuestos no se detienen solo en la protección de la superficie y en la reproducción, sino que podrá ser aplicado en estatuas, en medidas de protección y también como forma posible de restauración como: consolidación, morteros biológicos compuestos de bacterias carbonatógenas y de polvos de roca, encolado, fijación, pigmentación⁶⁵.

D) Posibilidad de devolver a las localidades de origen una réplica exacta de las obras que por necesidades de conservación o exposición hayan salido de allí.

E) Incidiendo de nuevo, de una forma indirecta en el tema de la conservación, las reproducciones, gracias a su exactitud, pueden ser utilizadas como **control** de cualquier

⁶⁴ Orial, G., Castanier, S., Le Metayer, G. y Loubière, J. F. “*The Biomineralization: A New Process to Protect Calcareous Stone; Applied to Historic Monuments.*” Biodeterioration of Cultural Property 2, pp. 98 - 99 (1993). [The Proceedings of the 2nd International Conference on Biodeterioration of Cultural Property \(ICBCP - 2\).](#) October 5 - 8, 1992, Yokohama, Japan.

⁶⁵ Castanier, S., Orial, G., Levrel, G., Loubiere, J. F. “*Les bactéries architectes*”. Oré n° 1: pp. 62. [Sept. 1996.](#)

método de consolidación aplicado a piezas que permanezcan “*in situ*”, pudiendo así determinarse, de una forma muy segura, el grado de eficacia alcanzado por el tratamiento.

A todo lo expuesto anteriormente habría que decir que la conservación y la restauración de obras de arte - o según el concepto actual más amplio, de bienes culturales - es un fenómeno en el que están involucrados tanto aspectos técnicos como socio culturales. El conocimiento de las restauraciones efectuadas a lo largo de la Historia, así como las actitudes y políticas de conservación de esos bienes, nos ayuda a comprender mejor la evolución cultural de la humanidad.

BIBLIOGRAFIA

1. Accardo, A., Massa, S., Rossi - Doria, P., Tabasso, M. "*Measures of porosity and of mechanical resistance in order to evaluate the state of deterioration of some stones*".
2. Adolphe J.-P. et Billy C., - Biosynthèse de calcite par une association bactérienne aérobie. *C.R. Acad. Sc.*, Paris, 278, 2873-2875, 1974.
3. Proc. Int. Symp. Deterioration and Protection of Stone Monuments, Paris, 5 - 9/VI/1978
4. Amoroso, G. G., and Fassina, V., "*Stone decay and conservation*" in Material Science Monographs 11, Elsevier, Amsterdam (1983).
5. Babor, A., Ibarz, J., "*Química general moderna*", p. 733, edit. Marín, S.A., Madrid 1989.
6. Berkeley C., - "*A study of marine bacteria*", Straits of Georgia B.C. *Proc. Trans. R. Soc. Can*, Ottawa section, 15-43, (1919).
7. Berner R. A., - "*Chemical diagenesis of some modern carbonate sediments*". *Amer. J. Sci.*, 1-36, (1965).
8. Berner R. A., - "*Calcium carbonate concretions formed by the decomposition of organic matter*", *Science*, 159, 195-197, (1968).
9. Billy C. et Chavignac M.-A., - "*Rôle des facteurs biologiques dans la calcification des grottes de Lascaux et de Font-de-Gaume*", *C. R. Acad. Sci. Paris*, 283, 2, 207-209 (1976).

10. Buces Aguado, J. A. “*Criterios de prestación*”. Instituto de Conservación y Restauración de Bienes Culturales. Ministerio de Educación y Ciencia. Revista de Museología, nº 8. Julio de 1996.
11. Blazquez F., Calvet F. et Vendrell M. ,“*Lichenic alteration and mineralization in calcareous monuments of northwestern Spain*”, Geomicrobiology Journal, 13, 223-247,(1995).
12. Boquet E., Boronat A. et Ramos~Cormenzana A., – “*Production of calcite (calcium carbonate) crystals by soil bacteria is a general phenomenon*”, Nature, London, 246, 527 – 529, (1973).
13. Camaiti, M., Borselli, G., and Matteoli, U., “*Prodotti consolidanti impiegati nelle operazioni de restauro*”, Edilizia 2 (10) (1988) 125 - 134.
14. Carta de Copenhague, Septiembre de 1984.Graf Adelman, G.S. “ *Restaurator und Denkmalpflege*” in *Nachrichtenlat der Denkmalpflege in Baden - Württemberg*, vol. 8, nº 3. Documento del texto preparado por el Equipo de trabajo para la formación en conservación y restauración. Artículo: “*El Conservador - restaurador: Una definición de la profesión*”. Punto 3:” *Impacto y clasificación de las actividades del conservador - restaurador*”: 3.1., 3.2., 3.3.,3.4., 3.5., 3.6., 3.7. y 3.8. pp. 5,6. .
15. Cabrol P. ,”*Contribution á l'étude du concrétionnement carbonatédes grottes du Sud de la France. Morphologie, genèse, diagenèse*”, *Mém. Centre études et rech. Géol Hydrogéol.*, Montpellier, XII, 275 p., (1987).
16. Castanier S. – “*Étude de l'évolution quantitative et qualitative des populations bactériennes précipitant le carbonate dans différents cas artificiels de*

confinement réalisés à partir d'eau et de sédiments lagunaires méditerranéens”,
Thèse 3ème cycle, Univ. Aix-Marseille II, 131 p., (1984).

17. Castanier S., - “*Microbiogéologie : Processus et modalités de la carbonatogenèse bactérienne*”, Thèse Doct. Etat, Université de Nantes, 541 p., (1987).
18. Castanier S., Maurin A. et Bianchi A., – “*Participation bactérienne à la précipitation du carbonate*”, C.R. Acad. Sc., Paris, 299, 1333-1336, (1984a).
19. Castanier S., Levrel-Le Metayer G. et Loubière J.-F: “*Nouvelles compositions pour mortier biologique, procédé de recouvrement d'une surface ou de comblement d'une cavité à l'aide des compositions*”, Brevet n° 95 05861, (1995)
20. Castanier S., Le Metayer-Levrel G. et Perthuisot J.-P. : “*La carbonatogenèse bactérienne. Proceeding Journées Internationales à la mémoire de J.-C. Fontes*”, (acceptée, sous presse), (1996).
21. Castanier, S., Maurin, A., Bianchi, A. Sédimentologie.-“*Participation bactérienne à la précipitation du carbonate.*” C.R. Acad. Sc. Paris, t. 299, Série II, n° 19: p.1333 -1336. (1984).
22. Castanier, S. “*Microbiogéologie: Processus et modalités de la carbonatogenèse bactérienne.*” Thèse Doct. État, Univ. Nantes, p.469 - 472. 1987.
23. Castanier, S. Maurin, A. Perthuisot, J.P. “*Les Cugnites: carbonates amorphes de Ca et Mg, précurseurs possibles de la dolomite.*” C. R. Acad. Sci. Paris, t. 306, Serie II, p. 1231 - 1235, 1988.
24. Castanier, S. Maurin, A. Perthuisot, J. P. “*Production bactérienne expérimentale de corpuscules carbonatés, sphéroïdaux à structure fibro - radiaire. Réflexions sur la définition des ooïdes*”. Bull. Soc. Géol. France, 1989 b, (8), t. V, n° 3,pp. 589 - 595.

25. Castanier, S. Maurin, A. Perthuisot, J. P. “*A trial to get microbial dolomite in freshwater*”. Geobios, nº 23, fasc. 1, p. 121 - 128. 1990 a.
26. Castanier, S., Orial, G., Le Metayer, G. y Loubière, J. F. “*The Biomineralization: A New Process to Protect Calcareous Stone; Applied to Historic Monuments*”, Biodeterioration of Cultural Property 2, pp.98 - 116 (1993). The Proceedings of the 2nd International Conference on Biodeterioration of Cultural Property (ICBCP - 2). October 5 - 8, 1992, Yokohama, Japan.
27. Castanier, S., Orial, G., Levrel, G., Loubiere, J. F. “*Les bactéries architectes*”. Oré nº 1: pp. 58 - 62. Sept. 1996.
28. Cortes, V., Martín, A. “*The effects of atmospheric pollution by fluorides on stone alteration. II Calcareous materials. III The enhancing of deterioration natural agents action*”. Proc. 3rd Int. Cong. Deterioration and Preservation of Stones, Venice, 24 - 27/X/1979. (13 - 24).
29. D’Arcy Thompson. “*Sobre el crecimiento y la forma*”, edit. Blume, pp. 130 - 135. 1980.
30. Doc. NORMAL 11/85, ICR & CNR, Rome (1986). 1- 7.
31. EL MUNDO, (Periódico) 28 de septiembre de 1995; Cultura ,p.85. “*Las culturas de los mares del sur*”.
32. Drew G. H. – “*The action of some denitrifying bacteria in tropical and temperate seas, and the bacterial precipitation of calcium carbonate in the sea*”, Journ. Mar. Biol. Assoc., IX, 142-155, (1910a).
33. Drew G. H. – “*On the precipitation of calcium carbonate in the sea by marine bacteria, and on the action of denitrifying bacteria in tropical and temperate seas*”. Journ. Mar. Biol. Assoc., IX, 479-523, (1910b).

34. Drew G.H. – “*On the precipitation of calcium carbonate in the sea by marine bacteria, and on the action of denitrifying bacteria in tropical and temperate seas*”, Publs. Carnegie Instn. Wash. Publ. 182 Papers from Dept. mar. Biol., 5: 1-45, (1914).
35. Garcia Gallego, Jerónimo. “*La reproducción aplicada a la conservación de obras de arte*”. Proart, S.A. Ctra. De Barajas a Paracuellos, Km. 8. Paracuellos del Jarama (MADRID).
36. Gómez González, M^a Luisa. “*Examen científico aplicado a la Conservación de Obras de Arte*”. Ministerio de Cultura. Dirección General de Bellas Artes y Archivos. Instituto de Conservación y Restauración de Bienes Culturales. 1994.
37. Gray M.W., – “*The bacterial ancestry of plastids and mitochondria*”, BioScience, 33 (11) 693-699, (1983).
38. Greenfield L. J. – “*Metabolism and concentration of calcium and magnesium and precipitation for calcium carbonate by a marine bacterium*”, Ann. N. Y. Acad. Sci., New York, 1-9, 23-45, (1963).
39. Heron - Hallen, *Phil. Trans. B*, 206 (1915), 262.
40. Herraiz, J. A. y Rodriguez Lorite, M. A. “*Recomendaciones para el control de las condiciones ambientales en exposiciones temporales*”. Dirección General de Bellas Artes. Instituto de Conservación y Restauración de Bienes Culturales. 1991.
41. ICCROM. “*Lavas and Volcanic Tuffs*”. Proceedings of the International Meeting. Easter Island, Chile, October 25 - 31, 1990.
42. Irvine, Robert. Y Woodhead, Sims. “*Secreción de carbonato de calcio por los animales*”. (*Proc. Roy. Soc. Eding.* 308 - 16; 324 - 51, (1889 - 90).

43. Instituto Eduardo Torroja. “*Diagnosis y tratamiento de la piedra*”. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, 1990.
44. Instituto Eduardo Torroja. Monografías. “*La patología y los estudios patológicos*”. Madrid, 1990.
45. Kölliker, *Icones Histologicae.*, p. 119, etc., 1864
46. Krumbein W. E. – “*Rôle des microorganismes dans la genèse, la diagenèse et la dégradation des roches en place*”, Rev. Ecol. Biol. Sol, Nancy, 9, 3, 283-319, (1972).
47. Lalou C. – “*Sur un mécanisme bactérien possible dans la formation des dépôts carbonates dépourvus d'organismes*”, C. R. Acad. Sci., Paris, 369-372, (1954).
48. Lalou C. – “*Studies on bacterial precipitation of carbonates in sea water*”, J. Sed. Petrol, 27, 190-195, (1957).
49. Lazzarini y Laurenzi, Tabasso. “*Il restauro de la piedra*”. (CEDATI - PADOVA), 1986.
50. Leclerc H., Gaillard J.-L, Simonet M., – “*Microbiologie générale La bactéries et le monde bactérien*”, ed. Doin, 535 p., (1995).
51. Leduc, Stéphane. “*Mechanism of life*”. 1911. Thompson, D’Arcy. “*Sobre el crecimiento y la forma*”, pp. 130-135, edit. Blume, 1980.
52. Le Métayer-Levrel G. – “*Biominéralisation de surfaces : application á la protection des pierres de taille*”, Diplôme de Recherche Universitaire, Université de Nantes, 154 p., (1993).
53. Lipmann C. B. – “*Further studies on marine bacteria with special reference to the drew hypothesis on CaCO₃ precipitation in the sea*”, Carnegie Inst. Washington Publication, 391, 231- 248, (1924).

54. Macarrón Miguel, Ana M^a. *“Historia de la Conservación y la Restauración”*. Edit. Tecnos, 1995.
55. MAGISA. Fundición en bronce - Cera perdida - Esculturas en chapa - Bronce - Latón Acero inoxidable - Acero corten. Av. Hnos. Granda, nº 28. 28022 MADRID.
56. Mairinger, F. and Scheiner, M. *“New Methods of Chemical Analysis. A tool for conservation”*. Preprints to the Washington Congress, 1982, pp. 5 -15.
57. Marabelli, M. & Tabasso, M. *“Materiale della pittura murale”*. Edit. Sistema, Roma, 1977.
58. Martín, A. *“Ensayos y experiencias de alteración en la conservación de obras de piedra de interés Histórico Artístico”*. Fundación Areces. 1990.
59. Mayer, R, *“Materiales y técnicas del arte”*, Ed. , Herman Blume, Madrid 1985.
60. Mcallum M. F. et Guhathakurta K. – *“The precipitation of calcium carbonate from sea water by bacteria isolated from Bahama Bank sediments”*, J. Applied Bacteriol., 33, 649-655, 1970.
61. Moberg E. G., Greenberg D. M., Revelle R. et Allen E. C. – *“The buffer mechanism of sea water”*, Scripps Inst. Oceanography Bull., Tech. Ser. 3, 231-278, (1934).
62. Monty C. L. V. et Van Laer P. – *“Experimental radial calcite ooids and fossil counterparts. 5th European”*, Regional. Meeting of Sedimentology, Marseille, 296-297, 1984.
63. Moncrieff, A., and Hempel, K., *“Work on the degeneration of sculptured stone”* in Conservation of Stone and Wooden Objects, 2nd edn, IIC, London (1971) Vol. 1, 103

64. Novitsky J. A. – “*Calcium carbonate precipitation by marine bacteria*”, *Geomicrobiology J.*, 2, 375-388, 1981.
65. Oriol G., Castanier S., Le Métayer G. et Loubiere J.-F. – “*The Biomineralization: A new Process to Protect Calcareous Stone; Applied to Historic Monuments*”. 2nd International Conference on Biodeterioration of cultural Property (ICBCP-2), October 5-8, 1992, Yokohama, Japon. Biodeterioration of cultural Property 2, 98-116, 1993.
66. Orus, F., “*Materiales de construcción*”, edit., Dossat, S. A. , 7^a edic., Madrid 1985.
67. Pelczar, J., eid, D., Chan, E., “*Microbiología*”, cuarta edic., segunda edic. en español, edit. McGraw – Hill Book Co., U. S. A., Mexico 1987.
68. Pouchet y Charbry, C. R. Soc. Biol. Paris(9), 1(1889), 17 - 20; C. R. Acad. Sci. Paris, 108 (1889), 196 - 8.
69. Price, C.A., “*The consolidation of limestone using a lime poultice and limewater*” in Adhesives and Consolidants, IIC, London (1984) 160 - 162.
70. Perthuisot J.-P. – “*Sites et processus de la formation d'évaporites dans la nature actuelle*”. Bull. Centre Rech. Elf-Aquitaine, Pau, 207-233, 1980.
71. Perthuisot J.-P. – “*Recent evaporites in Sonnenfeld P. and Perthuisot J.-P. Brines and evaporates*”, 28th Int. Geol. Congress, Washington, Short Course in Geology, 65-126, 1989.
72. Perthuisot J.-P., Castanier S. et Maurin A. – “*La huntite (CaMg₃(CO₃)₄) de la Sebkha el Melah (Zarzis, Tunisie). Un exemple de microbiodiagenèse carbonatogène*”. Bull. Soc. Géol. Fr., Paris, (8), VI, 4, 657-666, 1990.

73. Perthuisot J.-P., Castanier S., Rouchy J.-M., Maurin A. et Guélorget O. “*Les rôle des bactéries dans la précipitation du sel. Exemple du Lac Asal (Djibouti)*”, Actes Coll. Intern. Sel, Salies de Béarn, 1190-144, 1993.
74. Phillipon J., Jeannette D., Lefevre R.-A., “*La conservation de la pierre monumental en france*”, ed. presse tlu CNRS, 270 p. 1992.
75. Revista Natura, “*Italia: Nuevas técnicas para conservar el patrimonio artístico. ¿Dirías que son de plástico?*”, pp. 58- 62, 1996.
76. Shafer, R. J. “*Causes of deterioration on building materials.I - chemical and physical causes*”, *Chemistry and Industry* 32 (1967) 1584 - 1586.
77. Stolkowski J.– “*Le calcium et la vie. Que sais-je*”, N° 757, 72p., 1968.
78. -Stolow, N. “*Controlled environment for works of art in transit*”. Rome, International centre for Study of the Conservation and restoration of cultural Property (Rome Centre), 1966.
79. -Stolow, N. “*Conservation and exhibitions: packing, transport, storage and environmental considerations*”. Butterworths. 1986.
80. TelLechea, D. I. ,”Enciclopedia de la Consvración Y Restauración”,p.485, Ed. Technotransfer, Argentina , 1981.
81. Tiano, Piero. “*Stone reinforcement by calcite crystal precipitation induced by organic matrix macromolecules*”. *Studies in Conservation*. Volume 40. (1995). N° 3: pp. 171 - 176.
82. UNESCO, “*La Conservation Préventive de la pierre*”,Museos y Monumentos,XVIII, Ginebra, 1982.

83. Vesque, Julien. "*Sur la production artificielle de cristaux d'oxalate de chaux semblables à ceux qui se forment dans les plants*". *Ann. Sci. Nat. (Bot.)*(5), 19 1874, 300 - 13.
84. Wayt Gibbs, W., "*Industria de la construcción: Nuevos materiales comunes*". *Revista Investigación y Ciencia*, febrero, 1997, p. 41.

Indice de figuras

Fig. 1. Precipitación pasiva: Ciclo del Nitrógeno	21
Fig. 2. Precipitación pasiva : Ciclo del Sulfuro.....	22
Fig.3. Esquema de la carbonatogénesis autótrofa	23
Fig.4. Las tres fotografías muestran al <i>Bacillus Cereus</i> , bacteria encargada de producir la carbonatogénesis	25
Fig. 5. Las tres fotos muestran como el <i>Bacillus Cereus</i> fabrica el manto de biocalcín.....	26
Fig. 6. Distintas aplicaciones del proceso de Biomineralización	30
Fig. 7. Las dos primeras fotografías exponen, como se aplica el <i>Mortero bacteriano</i> para la consolidación de la piedra (Catedral de Amiens. Francia). La tercera fotografía muestra como se aplica la Biomineralización (escultura de la Catedral de Notre- Dame).....	31
Fig. 8. Molde realizado en silicona de monedas españolas de 500 pesetas.....	35
Fig. 9. Esquema de cómo se realiza el método de Biomineralización	38
Fig. 10. Reproducción de las monedas de 500 pesetas preparadas para aplicarles la Biomineralización	39
Fig. 11 . Monedas ya extraídas de la incubadora y secas.....	41
Fig. 12. Molde realizado en silicona de efigies indígenas.....	42
Fig. 13. Efigies indígenas con distinto semblante, ya extraídas de la incubadora y secas.....	45
Fig. 14. ‘ <i>Menelita</i> ’ original y molde de silicona con original en su interior.....	48
Fig. 15. Reproducción de las dos caras de la ‘ <i>Menelita</i> ’ ya en proceso de Biomineralización	55
Fig.16. Reproducción final de la ‘ <i>Menelita</i> ’ grande realizada con <i>Bacteria liofilizada</i>	56
Fig. 17. Detalle desde distintos ángulos de la ‘ <i>Menelita</i> ’ grande.....	57
Fig. 18. ‘ <i>Buda</i> ’ original. Cara A y cara B	59
Fig. 19. Molde de figura de ‘ <i>buda</i> ’ realizado en Silastic RTV – 3481	59
Fig. 20. Asentamiento del Mortero nutritivo n ° 6 en la cara B del molde del “ <i>buda</i> ”	62

Fig. 21. Asentamiento del Mortero nutritivo n ° 6 y pequeños fragmentos de gasa , sobre el molde del “ <i>buda</i> ”	64
Fig. 22. Detalle del craquelamiento del mortero, aplicado sobre el molde del <i>‘buda’</i>	67
Fig. 23. Detalles de la fragmentación del <i>‘buda’</i> tras su extracción del molde.....	68
Fig. 24. Molde de moneda con orificios	70
Fig. 25. Reproducción de moneda con orificios.....	72
Fig. 26. <i>‘Menelita’</i> original pequeña y molde de silicona con original en su interior.....	75
Fig. 27. Mortero de <i>Bacteria revivificada</i> , aplicado en las dos caras del molde de la <i>‘Menelita’</i> pequeña.....	77
Fig. 28. Mortero de <i>Bacteria liofilizada</i> , aplicado en un molde de <i>‘efigie indígena’</i>	77
Fig. 29. Reproducciones de las dos caras de la <i>‘Menelita’</i> pequeña	78
Fig.30. Reproducción de <i>efigie indígena</i> preparada para aplicar la Biomíneralización	79
Fig. 31. Aplicación de la Biomíneralización con bacteria liofilizada.....	79
Fig. 32. Frasco con <i>Bacteria revivificada</i> y peachímetro manual.....	80
Fig. 33. Adhesión de las dos superficies de la <i>‘Menelita’</i> con el Mortero nutritivo n ° 6 (N. M. 6)	83
Fig. 34. Reproducción de la <i>‘Menelita’</i> pequeña. Vista frontal y lateral.....	83
Fig. 35. Reproducción de <i>efigie indígena</i>	88
Fig. 36. Gel de sílice en estado puro.....	93
Fig. 37. Detalle de relieve de la catedral de Amiens restaurado con Mortero biológico	121
Fig. 38. Obtención de la Biomasa	122
Fig. 39. Método de centrifugación y congelación para la obtención de la biomasa.....	124
Fig. 40. Moldes A y B realizados con el mortero nutritivo n ° 7 y los distintos pigmentos anteriormente nombrados.....	126
Fig. 41. Realización con plastilina, del molde del pequeño <i>‘Amonites’</i>	127
Fig. 42. Molde, registros y <i>‘Amonites’</i> original.....	127

Fig. 43. El mismo molde ya con silicona en su interior.....	128
Fig. 44. Molde `Amonites´ (pequeño) original realizado en Silastic RTV - 3481	130
Fig. 45. Reproducción de las dos caras del `Amonites´ (pequeño) ya en proceso de Biomineralización	130
Fig. 46. Reproducciones de el molde de hielos (blanco de España y siena oscuro) y `Amonites´ pequeño en proceso de Biomineralización	131
Fig. 47. Reproducciones de el molde de hielos (amarillo ocre y sombra tostada), en proceso de Biomineralización	132
Fig. 48. Reproducciones de el molde de hielos (rojo indio y negro ébano), en proceso de Biomineralización	133
Fig. 49. A. Reproducción final de los moldes de hielo (siena oscuro, amarillo ocre y sombra tostada).....	133
Fig. 50. B. Reproducción final de los moldes de hielo (rojo indio, negro ébano y blanco de España).....	136
Fig. 51. Reproducción del `Amonites´ pequeño con Crema bacteriana	139
Fig. 52. Moldes de monedas y copias de efigies indígenas	140
Fig. 53. Reproducciones de efigies indígenas y monedas , en proceso de Biomineralización	141
Fig. 54. Reproducciones de `efigies indígenas´ y `monedas´ (caras y escudos), ya finalizado el proceso de Biomineralización	144
Fig. 55. Moldes de cara y escudo de moneda de 500 pesetas, realizadas en Silastic RTV - 3481	145
Fig. 56. Reproducción de `Amonites´ pequeño realizada con Bacteria liofilizada	146
Fig. 57. Reproducción de la cara y escudo de una moneda de 500 pesetas.....	146
Fig. 58. Reproducción de un “Amonites” pequeño realizado con bacteria liofilizada	148
Fig. 59. Molde de figura de `buda´ realizado en Silastic RTV – 3481	151
Fig. 60. Reproducción del `buda´ resquebrajado y cuarteado.....	151
Fig. 61. Molde, registros y `Amonites´ grande con original.....	152
Fig. 62. El mismo molde ya silicona en su interior.....	153
Fig. 63. Molde del `Amonites´ grande original, realizado en Silastic RTV – 3481	155

Fig. 64. Mortero realizado con <i>Bacteria liofilizada</i>	155
Fig. 65. Reproducción de la cara A del 'Amonites' grande, ya en proceso de Biom mineralización.....	157
Fig. 66. Molde de figura de 'buda' realizado en Silastic RTV – 3481.....	159
Fig. 67. Mortero realizado con <i>Bacteria liofilizada</i>	160
Fig. 68. Mortero realizado con <i>Bacteria liofilizada</i>	162
Fig. 69. Reproducción realizada con <i>Bacteria liofilizada</i>	163
Fig. 70. Adhesión de las caras A y B del 'Amonites' grande, realizado con <i>Crema bacteriana</i>	165
Fig. 71. Reproducción final del 'Amonites' grande. Adhesión de las caras A y B.....	168
Fig. 72. Molde para la reproducción del 'buda', realizado en Silastic RTV – 3481.....	168
Fig. 73. Reproducción final de la cara B del 'buda'.....	169
Fig. 74. Adhesión de la reproducción de las caras A y B del 'buda'	170
Fig. 75. Adhesión de las caras A y B del 'buda' con <i>Crema bacteriana</i>	171
Fig. 76. 'Buda' ya terminado y barnizado	169
Fig. 77. Molde de una pequeña 'Menelita', realizada con Silastic RTV – 3481.....	170
Fig. 78. Reproducción de las caras A y B de una 'Menelita' pequeña.....	171
Fig. 79. Reproducción de la 'Menelita' pequeña, realizada con <i>Crema bacteriana</i>	174
Fig. 80. Molde de silicona con 'Menelita' original grande en su interior.....	175
Fig. 81. Mortero de <i>Bacteria revivificada</i> , aplicado en las dos caras del molde de la 'Menelita' grande.	176
Fig. 82. Cara de la 'Menelita' fragmentada.....	177
Fig. 83. Cara de la 'Menelita' fragmentada, ya restaurada.....	178
Fig. 84. 'Menelita' en proceso de Biom mineralización.....	179
Fig. 85. Ambas caras de la 'Menelita' grande, ya finalizada.....	179
Fig. 86. Reproducción del 'Amonites' pequeño, preparado para aplicarle la Biom mineralización.....	180
Fig. 87. Reproducción del 'Amonites' pequeño, realizado con <i>Crema bacteriana</i>	180
Fig. 88. Pieza de pintura mural adherida a una piedra artificial.....	187

Fig. 89. Detalle de la adhesión de una pieza de pintura mural , a una piedra artificial	183
Fig. 90. Adhesión de pieza de pintura mural rajada y posteriormente asentada a una piedra artificial.....	188
Fig. 91. Pieza de pintura mural adherida a piedra de ' <i>Tuffeau</i> '.....	188
Fig. 92. Adhesión de pieza de pintura mural , sobre una piedra de St. Vast ...	189
Fig. 93. Piezas de pintura mural en proceso de Biom mineralización	191
Fig. 94. Detalle de las piezas de pintura mural , una vez finalizada la Biom mineralización	191
Fig. 95. Adhesión de trozos de piedras de St. Vast mediante el Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.)	193
Fig. 96. Adhesión de piezas de dos piedras de <i>Tuffeau</i> y una piedra de St. Vast	193
Fig. 97. Relleno de oquedad con Mortero nutritivo n ° 7 (N. M. 7.) sobre piedra de <i>Tuffeau</i>	195
Fig. 98. Relleno de oquedad con Mortero nutritivo n ° 7 ya finalizada la Biom mineralización	195
Fig. 99. Pintura mural del S. XVII fragmentada.....	196
Fig. 100. Detalle de la pintura mural ya restaurada y adherida a una pieza de piedra de <i>Tuffeau</i>	197
Fig. 101. Vista lateral d la pintura mural, donde se puede el mortero y su adhesión a la pieza de <i>Tuffeau</i>	197

